

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“FRAGMENTACIÓN DEL BOSQUE
CHAQUEÑO Y CAMBIOS EN EL
USO DE LA TIERRA: EFECTOS
DEL GLIFOSATO EN LAS
PLANTAS NATIVAS”**

Biól. Ferreira, María Florencia

Directora: Dra. Carolina Torres

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Córdoba, Argentina

2016

COMISIÓN ASESORA

Dra. Carolina Torres, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, UNC – CONICET, Córdoba, Argentina.

Dra. Graciela Valladares, Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba (CIEC), Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, UNC – CONICET, Córdoba, Argentina.

Dra. Alejandra Martinez-Ghersa, Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura (IFEVA), UBA- CONICET, Buenos Aires, Argentina.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

Firma: Aclaración:

AGRADECIMIENTOS

- Al CONICET por el apoyo financiero de las Beca Doctoral otorgada para poder llevar a cabo el trabajo de Doctorado, y por la financiación aportada a los proyectos del grupo de trabajo.
- Al Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, por la posibilidad de utilizar el espacio físico, los laboratorios y demás instalaciones.
- A los miembros de la Comisión Asesora de Tesis: Dra. Graciela Valladares, Dra. Alejandra Martinez-Ghersa, por todos los valiosos comentarios y sugerencias recibidos en las reuniones de Comisión Asesora, ya que sus aportes fueron sumamente constructivos, permitiendo mejorar sustancialmente el análisis, la presentación y discusión de los resultados de la presente Tesis Doctoral.
- A mi Directora de Tesis, Dra. Carolina Torres, y al Dr. Leonardo Galetto por su apoyo, dedicación, correcciones, sugerencias que siempre fueron muy constructivas y valiosas, permitiéndome transitar este camino con más seguridad, aprendiendo muchísimo de ellos.
- A los integrantes del laboratorio de Ecología Reproductiva: Leticia, Mariana, Ernesto, Gabriel, Pablo, Nicolás y Lucía, por sus consejos, su apoyo y colaboración en el trabajo de campo, en el laboratorio, por los viajes de campo, los seminarios y actividades.
- Al Ing. Agrónomo Enzo Bracamonte, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNC, por su inmensa colaboración en las etapas experimentales de esta Tesis, y por sus valiosas enseñanzas y consejos para iniciarme en este nuevo campo de conocimiento.
- A Alejandro Vianello y al personal del Laboratorio de Ecotoxicología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNC, por su colaboración, y por permitirme llevar a cabo parte de las etapas experimentales de la presente Tesis en sus instalaciones.
- A Sol Pérez, por su colaboración en el Invernadero, por ayudarme a cuidar las plantas.
- A Leonardo Ontivero, Lisandro Fernández y Carla, por los incontables viajes al campo, por acompañarme y ayudarme en los muestreos.

- Al personal y a los dueños de los diferentes sitios de estudios, por permitirme entrar en su propiedad y realizar los muestreos necesarios.
- A mi familia por su gran apoyo, paciencia y aliento en estos 5 años de Doctorado, porque sin ellos no habría sido posible llevar a cabo este proyecto tan anhelado.
- A todas aquellas personas que me brindaron su ayuda durante todo el proceso de esta Tesis, permitiéndome mejorar el contenido, los experimentos, los viajes, etc. Muchas gracias

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción General.....	3
Objetivos Generales	11
Objetivos Específicos	11
Hipótesis General	12
Materiales y Métodos Generales	14
1. Área de estudio	14
2. Caracterización de los sitios de estudio	16
Capítulo I: “Efectos del herbicida glifosato en especies de plantas nativas no-blancas del Bosque Chaqueño de Argentina”	20
Introducción	20
Materiales y Métodos	24
1. Especies estudiadas	24
2. Aplicación de glifosato	24
3. Valoración de los efectos del glifosato	25
3.1 Valoración cualitativa	25
3.2 Valoración cuantitativa	25
4. Análisis de datos	26
Resultados	27
1. Efectos del glifosato según valoración cualitativa.....	27
2. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa.....	29
2.1 Reducción del crecimiento (RC ₅₀)	29
2.2 Sensibilidad al glifosato	30

Discusión	34
1. Efectos del glifosato en la supervivencia de plantas nativas no- blanco.....	34
2. Efectos del glifosato en la selección de nuevos biotipos tolerantes al glifosato	35
3. Síntesis y Aplicaciones	36
Apéndice I	38
Capítulo II: “Diversidad y Supervivencia de plantas nativas en relación al grado de exposición al glifosato en fragmentos de Bosque Chaqueño”	42
Introducción	42
Materiales y Métodos	48
1. Etapa en laboratorio	48
1.1 Especies estudiadas	48
1.2 Aplicación de glifosato	48
1.3 Valoración de los efectos del glifosato	49
1.4 Análisis de datos	49
2. Etapa en el campo	49
2.1 Diseño del experimento	49
2.2 Valoración de los efectos del glifosato	51
2.2.1 Valoración cualitativa	51
2.2.2 Valoración cuantitativa	52
2.3 Análisis de datos	52
Resultados	53
1. Valoración cualitativa.....	53
1.1 <i>Bidens subalternans</i>	53
1.1.1 Laboratorio	53
1.1.2 Campo	53
1.2 <i>Amphilophium carolinae</i>	54
1.2.1 Laboratorio	54
1.2.2 Campo	55

2. Valoración cuantitativa	56
2.1 <i>Bidens subalternans</i>	56
2.1.1 Laboratorio	56
2.1.2 Campo	56
2.2 <i>Amphilophium carolinae</i>	57
2.2.1 Laboratorio	57
2.2.2 Campo	58
Discusión	59
Capítulo III: “Efectos del glifosato en plantas nativas no-blanco: Susceptibilidad de las especies en relación al grado de exposición al glifosato en los fragmentos de bosque”	62
Introducción	62
Materiales y Métodos	66
1. Sitios de estudio	66
2. Especies estudiadas	67
3. Aplicaciones de glifosato	67
4. Valoración de los efectos del glifosato	68
4.1 Valoración cualitativa	68
4.2 Valoración cuantitativa	68
5. Análisis de datos	69
Resultados	70
1. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa	70
1.1 Reducción del crecimiento	70
1.2 Sensibilidad al glifosato	90
1.3 Especies sensibles al glifosato	97
1.3.1 Aplicación temprana a las especies sensibles	97
1.3.2 Aplicación tardía a las especies sensibles	104
1.4 Especies tolerantes al glifosato	109
1.4.1 Aplicación temprana a las especies tolerantes	110
1.4.2 Aplicación tardía a las especies tolerantes	115

1.5 Selección de Modelos	121
2. Efectos del glifosato según valoración cualitativa	123
2.1 Especies sensibles al glifosato	149
2.1.1 Aplicación temprana a las especies sensibles	149
2.1.2 Aplicación tardía a las especies sensibles	151
2.2 Especies tolerantes al glifosato	154
2.2.1 Aplicación temprana a las especies tolerantes	154
2.2.2 Aplicación tardía a las especies tolerantes	156
2.3 Selección de Modelos	158
Discusión	160
1. Efectos del glifosato en la supervivencia de las plantas nativas no-blanco	160
2. Efectos del glifosato según el estadio de desarrollo de las plantas	161
3. Efectos de las dosis sub-letales del glifosato	163
Apéndice I	166
Apéndice II	191
Capítulo IV: “Diversidad y supervivencia de las plantas vasculares nativas en fragmentos de Bosque Chaqueño: Relaciones con el grado de exposición al glifosato utilizado en los cultivos”	216
Introducción	216
Materiales y Métodos	221
1. Diseño de muestreos y variables analizadas	221
1.1 Densidad de especies	222
1.2 Densidad de individuos por especie	224
1.3 Índices de diversidad	224
1.4 Composición	225
1.5 Similitudes y diferencias entre la diversidad de las plantas vasculares de los fragmentos de bosque estudiados	225
1.6 Supervivencia	226

2. Análisis de datos	227
Resultados	227
1. Caracterización de la diversidad de plantas vasculares	227
1.1 Densidad de especies	227
1.2 Densidad de individuos por especies	252
1.3 Índices de diversidad	254
1.4 Composición	260
1.5 Similitudes y diferencias entre la diversidad de las plantas vasculares de los fragmentos de bosque estudiados	263
1.6 Supervivencia de plantas vasculares nativas	266
Discusión	284
Apéndice I	288
Capítulo V: “Diversidad y supervivencia de plantas vasculares nativas en fragmentos de Bosque Chaqueño: Relaciones con la sensibilidad de las plantas al glifosato y el grado de exposición a este herbicida utilizado en los cultivos”	303
Introducción	303
Materiales y Métodos	308
1. Especies estudiadas	308
2. Diseños de muestreos y variables analizadas	309
3. Análisis de datos	310
Resultados	311
1. Densidad de individuos por especie en los fragmentos de bosque	311
2. Supervivencia de plantas nativas	313
3. Composición de especies	315
3.1 Sensibilidad al glifosato	317
3.1.1 Especies sensibles	318
3.1.2 Especies tolerantes.....	319

Discusión	322
Apéndice I	328
Discusión General	346
Bibliografía	358

RESUMEN

En las últimas décadas, los agronegocios basados en cultivos transgénicos se han expandido, en Argentina, en áreas anteriormente ocupadas por Bosques Chaqueños. Actualmente, el glifosato es el principal agroquímico utilizado, aunque cada vez hay más evidencias sobre los efectos ecotoxicológicos que produce en diversos organismos no-blanco, como las plantas que viven en ambientes naturales inmersos en los agroecosistemas. En este contexto, los objetivos principales de la presente Tesis Doctoral fueron: a) evaluar, en fragmentos de Bosque Chaqueño de la Provincia de Córdoba, las relaciones existentes entre diversidad, composición y supervivencia de plantas nativas, sensibilidad de las especies vegetales a los efectos del glifosato y grado de exposición de la vegetación a este herbicida, y b) detectar potenciales indicadores de pérdida de diversidad vegetal a fin de proponer acciones adecuadas para el manejo sustentable y la conservación de los bosques nativos. A fin de lograr estos objetivos, se describió y cuantificó la diversidad, composición y supervivencia de especies de plantas vasculares en 20 fragmentos de bosque nativo de diferente tamaño y con distintos porcentajes de superficie cultivada en el paisaje circundante. Se determinaron, en invernadero, los efectos de un gradiente de concentraciones de glifosato en 35 especies vegetales presentes en los fragmentos de bosque estudiados. Para dos especies (una tolerante y otra sensible al glifosato) se determinaron, en los fragmentos de bosque, los efectos de este herbicida en relación al grado de exposición de las plántulas a una pulverización en los cultivos. Los resultados mostraron un gradiente de sensibilidad al glifosato; algunas especies mueren con dosis muy bajas, mientras que otras sobreviven con efectos severos o son tolerantes al herbicida. En todas las especies estudiadas se observaron efectos letales o subletales, incluso cuando se aplicaron dosis equivalentes a aquellas que pueden llegar por deriva al interior de los fragmentos de bosque (por ejemplo, $\frac{1}{4}$ de la dosis habitual de las pulverizaciones en el campo). La comparación entre los efectos del glifosato observados en los experimentos en invernadero y en los fragmentos de bosque permitió estimar que parte de las pulverizaciones en los cultivos estarían llegando, al menos, hasta 80m hacia el interior de los fragmentos (12,5% de la dosis aplicada al cultivo). Los efectos del gradiente de concentraciones de glifosato fueron menores en las plántulas desarrolladas en invernadero a partir de semillas provenientes de fragmentos con mayor exposición a las pulverizaciones de los cultivos (fragmentos pequeños). Por último, se observó una mayor diversidad de especies sensibles al glifosato en los fragmentos con baja exposición a las

pulverizaciones (fragmentos grandes) y una mayor diversidad de especies tolerantes al glifosato en los fragmentos pequeños. En conclusión, los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral indican que la vegetación presente en los fragmentos de bosque nativo estaría siendo fuertemente afectada por la aplicación de glifosato en los cultivos adyacentes. Los efectos letales y subletales del glifosato en plantas nativas no-blanco estarían promoviendo, al mismo tiempo, la selección de biotipos tolerantes al glifosato (potenciales nuevas malezas) y la pérdida de biodiversidad en los bosques nativos inmersos en los agroecosistemas.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las sociedades humanas siempre estuvieron vinculadas con la naturaleza y con una dinámica productiva que se estableció en torno de los recursos naturales. Esto se vio claramente a partir de la agricultura y la domesticación de animales hace 10 mil años, actividades que integraban al hombre con la naturaleza en una relación en la que éste, si bien incidía en el proceso productivo, se adaptaba plenamente a su entorno, respetando la capacidad de producción y reproducción de las plantas, los animales y el ambiente. A partir de la Modernidad, la Revolución Industrial, y, particularmente, con la intensificación del capitalismo en el siglo XX, las necesidades del hombre fueron extendiéndose en términos cuantitativos y geográficos (Giarraca y Teubal, 2013).

Harvey (2004) señala que en la etapa actual del desarrollo del capitalismo neoliberal a escala internacional, prevalece lo que él denomina un proceso de “acumulación por desposesión”, contrapuesto a lo que tradicionalmente constituía el proceso de acumulación expansiva del capital: “Esto involucra, entre otras cuestiones, la mercantilización y privatización de la tierra, la expulsión forzosa de las poblaciones campesinas, la conversión de diversas formas de derechos de propiedad (común, colectiva, estatal, etc.) en derechos de propiedad exclusivos, la supresión del derecho a los bienes comunes, la transformación de la fuerza de trabajo en mercancía y la supresión de las formas de producción y consumo alternativos, los procesos coloniales, neocoloniales e imperiales de apropiación de activos, incluyendo los recursos naturales”.

En décadas recientes, las transformaciones operadas en el agro mundial han potenciado los aspectos netamente extractivos del modelo agrario, es decir, los “agronegocios” (Cáceres, 2015). Se trata de un proceso novedoso, ya que por siglos la agricultura tendió a ser sustentable al reproducir los recursos extraídos de la naturaleza. Pero no toda la agricultura es sustentable, pues requiere de recursos como el agua, la tierra fértil, la biodiversidad, que se hallan en cantidades limitadas y no todos son reproducibles. Menos aun cuando se trata de darle impulso a un agro extractivo, como el caso de la expansión sojera en la Argentina, que incide de manera significativa en el ambiente y en las poblaciones del entorno en el que se opera (Giarraca y Teubal, 2008). No caben dudas que, en las dos últimas décadas, las transformaciones agrícolas, no sólo en la Argentina sino en una buena parte del mundo, han generado un cambio tecnológico sin precedentes en lo agronómico, biotecnológico y económico sectorial, y han originado, en consecuencia, interrogantes

acerca de los efectos ecológicos que están contribuyendo a cambiar la sustentabilidad ambiental global, traccionados por este modelo agropecuario internacional (Pengue, 2014).

Desde el comienzo de la agricultura, el aumento en la producción global de alimentos provino casi exclusivamente de la expansión de los cultivos sobre áreas naturales (Ramankutty et al., 2006; Stewart y Robinson, 1997). Según estimaciones, durante los últimos cuatro siglos el área dedicada a tierras de cultivo pasó de valores insignificantes a ocupar entre el 40 y el 50% del área disponible, a expensas de bosques, pastizales naturales y humedales (Janzen, 2004; Richards, 1990). Entre 1882 y 1991, se registró un aumento del 75% en la superficie mundial dedicada a cultivos anuales, sumado a un aumento del 113% en pasturas implantadas (Norse et al., 1992). Actualmente, la expansión de las tierras agrícolas es uno de los cambios más significativos en el uso y cobertura de la tierra en todo el mundo (Matson et al., 1997; Viglizzo et al., 1997).

La situación en Argentina no fue la excepción a esta tendencia global (Frank et al., 2014). Durante las últimas décadas, la conversión de tierras para cultivo, junto con la intensificación gradual de la agricultura en tierras ya cultivadas, han determinado un incremento de la producción (Casas, 2001; Valenzuela de Mari, 1999; Viglizzo et al., 2003; 2004). Estos cambios fueron caracterizados por un fuerte proceso de agriculturización, definido por el reemplazo de tierras naturales, ganaderas y mixtas (con rotaciones entre pasturas y cultivos anuales) por sistemas agrícolas (Manuel-Navarrete et al., 2005). Esto se asoció a una mayor intensificación ganadera (multiplicación de los feedlots y tambos intensivos) en la región pampeana, expansión de la frontera agropecuaria hacia regiones extra-pampeanas (Adámoli et al., 2004) y una fuerte tendencia al monocultivo (Manuel-Navarrete et al., 2005).

La región agrícola argentina representa aproximadamente el 63% de la superficie continental del País (1,5 millones de km²). Comprende a las “macrorregiones” Centro, Noreste (NEA) y Noroeste (NOA) en las cuales ocurrió la expansión más significativa de cultivos anuales de secano durante las últimas cinco décadas (Viglizzo et al., 2011). Estas macrorregiones que hoy conforman el área agrícola han sido transformadas gradualmente por acción del hombre en una combinación de cultivos anuales, pasturas implantadas y pastizales y bosques nativos remanentes. En ellas, que en promedio dedican más del 27% de su superficie a cultivos de cosecha, se concentra actualmente el 89% de la población y el 98% de las cabezas de ganado bovino (INDEC, 2006).

El modelo de desarrollo sojero se encuentra ligado a profundas y complejas transformaciones del sistema agroalimentario nacional y mundial. En las décadas del '60 y

el '70 irrumpe en el mundo la denominada “Revolución Verde” (que implicaba el uso masivo de fertilizantes, agroquímicos y moderna maquinaria agrícola), impulsada por las potencias capitalistas bajo el argumento de que así se lograría una mayor producción mundial de alimentos (Altieri, 2001; Sevilla Guzmán, 2006).

En la Argentina, la “Revolución Verde” permitió incrementar los rindes debido a una agricultura de crecientes insumos externos. Los ciclos de vida cortos permitían el doble cultivo; en el Chaco se han alternado el trigo, el algodón y más tarde la soja, por lo que así desaparecieron los períodos de barbecho. Esta nueva agricultura incorporó agroquímicos de alta toxicidad y su modalidad de aplicación hizo estragos (Morello et al., 2006).

En las pampas, la expansión de la agricultura industrial se inició en la década de 1970 y en muchos casos se produjo a expensas de la tierra dedicada a la cría de ganado. En las regiones no pampeanas del centro y norte de Argentina, una expansión similar comenzó en la década de 1990 y llevó a una profunda transformación de los bosques nativos. En las zonas no pampeanas, la conversión comienza con la remoción del bosque, utilizando maquinaria pesada. Después de unos meses, los árboles y arbustos excavados se queman, lo que reduce el costo de la limpieza y acelera el proceso de conversión. Posteriormente, las parcelas deforestadas están cercadas y listas para sembrar con cultivos anuales, principalmente soja y maíz (Cáceres, 2015).

Los cultivos transgénicos fueron aprobados en Argentina en 1991 y sembrados en 1996 (Burachik, 2010). La soja tolerante al glifosato primero, y luego el maíz resistente a los lepidópteros, fueron las dos principales semillas transgénicas utilizadas en las primeras etapas. Actualmente, los agricultores utilizan semillas que incluyen múltiples transgenes en la misma planta (Laursen, 2010).

Como es sabido, las semillas transgénicas dependen en gran medida de los agroquímicos como estrategia principal para el control de las malezas y el control de plagas. El glifosato es el principal agroquímico utilizado en Argentina. Entre 1996 y 2009, el uso de glifosato aumentó de 14 millones a más de 200 millones de litros (Giarracca y Teubal, 2010). En 2011, la Argentina utilizó 336 millones de litros de agroquímicos, por un valor de 2,1 mil millones de dólares. Los herbicidas son los más utilizados y representan el 75% del volumen total y el 59% del valor económico. Los insecticidas están en segundo lugar (Kleffman Group, 2012). El uso de fertilizantes aumentó de 0,3 millones de toneladas en 1990 a 3,7 millones de toneladas en 2011 (Cáceres, 2015).

La Provincia de Córdoba representa la segunda economía en el país después de la Provincia de Buenos Aires, y, desde el punto de vista agrícola, durante la mayor parte del

siglo pasado la región no pampeana de esta provincia se había dedicado a los cultivos anuales y estaba cubierta con bosques nativos y secos utilizados, principalmente, para la cría extensiva de ganado. Sin embargo, se han producido importantes cambios en el uso de la tierra durante las últimas dos décadas; una combinación de factores ecológicos, tecnológicos y económicos ha tenido un gran impacto en el paisaje productivo (Zak et al., 2008). Los cultivos anuales se expandieron en áreas anteriormente ocupadas por bosques nativos, y de esta manera la superficie cultivada con cultivos anuales (en particular la soja) aumentó significativamente. Entre 1991 y 2011, la superficie sembrada con maíz, soja y trigo aumentó de 2,5 a 6,9 millones de hectáreas, a razón de 220.000 hectáreas por año. Durante este período, el maíz y el trigo se mantuvieron relativamente estables, pero la soja mostró una marcada expansión, pasando de 1,2 a 5,1 millones de hectáreas (Cáceres, 2015).

Varios autores sugieren que la expansión de la agricultura industrial es el principal motor del cambio de cobertura en la Provincia de Córdoba (Cáceres et al., 2010; Hoyos et al., 2013; Zak et al., 2008). El aumento de las lluvias observadas en las áreas Chaqueñas de Córdoba, junto con el nuevo paquete tecnológico y los altos precios internacionales de los productos básicos, son los factores que condujeron a este cambio.

Desde una perspectiva socioeconómica, es importante mencionar que el área sobre la cual la agricultura se ha expandido en las últimas décadas en la Provincia de Córdoba ha sido ocupada históricamente por campesinos, cuyos medios de vida dependen en gran medida de los bosques nativos, de los cuales obtienen (u obtenían) una gama de servicios ecosistémicos (Silvetti 2012; Tapella, 2012). Por lo tanto, su conversión en tierras de cultivo o pastura pone directamente en peligro su organización social (Cáceres et al., 2010).

Consecuencias del modelo

El denominado “modelo sojero de desarrollo” trajo aparejado serias consecuencias socio-ecológicas, a saber: 1) cambios en el uso de la tierra y el avance indiscriminado de la frontera agropecuaria (Cáceres, 2015); 2) el desplazamiento de cientos de miles de pequeños campesinos y comunidades indígenas (Bartra, 2008; Giarraca y Teubal, 2008); 3) el aumento de la desertificación, que en algunas regiones es irreversible, y la reducción de la productividad y nutrientes del suelo, de las cuales se extraen unas 20.305.794 toneladas por año (Abraham et al., 2005; Pengue, 2009); 4) una fuerte retracción de los cultivos diversificados de la agricultura familiar, los cuales aportan el 50% de lo que se consume en el país de frutas, legumbres, hortalizas, té, yerba mate, etc., lo que implicó la pérdida de

economías regionales y soberanía alimentaria del país (Rofman et al., 2008); 5) la concentración de la tierra y la riqueza (Barri, 2013).

Dentro de los cambios en el uso de la tierra encontramos a la fragmentación de los ambientes naturales, que refiere a la subdivisión y sustitución de éstos por agro-ecosistemas o urbanizaciones. La fragmentación del bosque usualmente ocurre con pérdida de bosque y el resultado final de este proceso es un paisaje con fragmentos de vegetación nativa usualmente rodeados por una matriz de cultivo (Didham, 2010). En distintos estudios, se ha observado que la estructura de las comunidades y la composición de especies pueden verse fuertemente modificadas en los fragmentos de bosque (Hill y Curran, 2001; Jacquemyn et al., 2001; Laurance et al., 2006; Williams-Linera, 2002), siendo, en algunos casos, el área de los fragmentos remanentes el factor de mayor influencia en las variables evaluadas (Benítez-Malvido, 1998; Echeverría et al., 2007). Además, se ha observado que muchas especies serían sensibles a las condiciones ambientales de los bordes de los fragmentos (Harper et al., 2005; Laurance, 2000; Murcia, 1995), pudiendo múltiples factores físicos y bióticos generados en la matriz ejercer su influencia en la composición, supervivencia y dinámica de las poblaciones presentes en los remanentes de bosque (Benítez-Malvido y Martínez-Ramos, 2003; Jules y Shahani, 2003; Laurance et al., 1998; Santos y Tellería, 2006).

El principal impacto ambiental de los herbicidas utilizados en las matrices agrícolas es probablemente el daño directo o indirecto que causan a animales, plantas y microorganismos, variando de lesiones menores hasta la muerte (Bourguet y Guillemaud, 2016). Este impacto no se limita al área en y alrededor de los campos. De hecho, durante las aplicaciones, los herbicidas se desvían en el aire y se filtran al suelo (Gil y Sinfort 2005; Pimentel, 1995). Una vez en el suelo, pueden ser lavados por el agua de escorrentía y durante la erosión del suelo, resultando en la lixiviación en ríos y lagos (Chopra et al., 2011).

En las últimas décadas se ha observado una disminución de la diversidad biológica en los agroecosistemas y se ha señalado que la intensificación de la actividad agrícola es una de las principales fuerzas responsables de esta disminución (Berendse et al., 2004; Tschardt et al., 2005). La intensificación agrícola causó cambios en el uso de la tierra, y, en consecuencia, los ecosistemas naturales complejos y los hábitats semi-naturales han disminuido en número y tamaño (Benton et al., 2003). Hoy en día, la mayoría de los ambientes semi-naturales en los paisajes agrícolas son los márgenes de campo (Marshall, 2001). Estas estructuras de paisaje suelen estar formadas por vegetación herbácea adyacente a los campos agrícolas (Hahn et al., 2014; Kleijn y Verbeek, 2000; Kühne y Freier, 2001), y son beneficiosos para la conservación de la biodiversidad, ya que a menudo son el único

hábitat remanente de una variedad de especies de plantas silvestres y animales en los agroecosistemas (Asteraki et al., 2004; Nentwig, 2000). Sin embargo, la biodiversidad de los márgenes de campo puede verse afectada por los agroquímicos debido a la proximidad de estos hábitats a los campos agrícolas (Firbank et al., 2008). Por ejemplo, los márgenes de la vegetación pueden estar expuestos a herbicidas (Schmitz et al., 2014) y diversos estudios han demostrado que las aplicaciones de los herbicidas en los márgenes del campo pueden afectar negativamente la composición de la comunidad de plantas no-blanco (De Snoo y Van der Poll, 1999; Kleijn y Snoeiijing, 1997; Marrs y Frost, 1997).

El glifosato fue originalmente desarrollado y patentado como un herbicida de amplio espectro, que produce la interrupción de la fotosíntesis y efectos letales en un amplio espectro de plantas (Baylis, 2000). Por lo tanto, el uso de glifosato se restringió, en un comienzo, a la aplicación previa a la siembra de campos agrícolas o forestales. Es decir, el glifosato no se aplicaba sobre los cultivos en crecimiento y por lo tanto la cuestión de los residuos que se acumulan en el material vegetal destinado al consumo fue menos relevante (Cuhra et al., 2016). De esta manera, en sus comienzos el glifosato se mostró como ambientalmente benigno por tener baja toxicidad para los trabajadores agrícolas y otros organismos no-blanco, y, también, por ser biodegradable. Sin embargo, varios de estos supuestos han sido recientemente examinados y cuestionados (Cuhra et al., 2016).

El glifosato (*N*-(phosphonomethyl) glycina) es un herbicida sistémico no-selectivo pos-emergente, que ha transformado la agricultura y es el más ampliamente utilizado en el mundo (Baylis, 2000). Normalmente, se pulveriza sobre el follaje y se absorbe a través de las hojas de las plantas. Al igual que una parte importante de los productos plaguicidas sintéticos, el glifosato aún tiene baja capacidad de restringir su efecto a las plagas para las cuales fue creado, y afecta mecanismos moleculares y celulares que carecen de diferencias relevantes entre las plagas y otros organismos vivos. Por ejemplo, la enzima EPSP (5-enolpiruvilsikimato-3-fosfato sintetasa), sobre la que actúa el glifosato, no solo se encuentra en plantas, sino también en bacterias y hongos (Padgett et al., 1995), algunos de los cuales juegan un papel clave en el ciclo de nutrientes del suelo (por ej., Feng et al., 2005; Zablotowicz y Reddy, 2004).

Por lo general, los herbicidas a base de glifosato, contienen, además, polioxietilenoamina (POEA) y sustancias adicionales. Estos coadyuvantes pueden, en algunos casos, ser más tóxicos que el ingrediente activo en sí (Howe et al, 2004; Peixoto, 2005). La evidencia reciente indica que el glifosato tiene efectos tóxicos complejos (Samsel y Seneff, 2015) y

apoya la hipótesis de que los coadyuvantes del glifosato Roundup son disruptores endocrinos en células humanas (Defarge et al., 2016).

Cada vez existen más trabajos que indican efectos toxicológicos severos del glifosato sobre diversos organismos no-blanco (Bourguet y Guillemaud, 2016; Cuhra et al., 2016). Se ha demostrado que, en particular, en las plantas vasculares el glifosato afecta al metabolismo de las auxinas interfiriendo en la síntesis del ácido 3-indolacético, una importante hormona auxínica, que tiene como precursor al aminoácido aromático triptófano. Esta hormona actúa en la regulación del crecimiento, en la diferenciación celular en diferentes tejidos, en la elongación de los coleóptilos y en la iniciación de ramas y raíces, y, normalmente, está presente en las semillas (Blackburn y Boutin, 2003).

Aunque es bien conocido que las plantas no-blanco pueden estar afectadas por los herbicidas aplicados en las concentraciones habituales que se usan en los cultivos (Pywell et al., 1996), se sabe mucho menos sobre los impactos de las concentraciones más bajas de herbicidas que llegan a las plantas como resultado de la deriva de las pulverizaciones (Gove et al., 2007). Las plantas perennes en comunidades semi-naturales pueden ser repetidamente expuestas a los herbicidas en el transcurso de varias estaciones de crecimiento, y dicha exposición a dosis subletales puede resultar en impactos a largo plazo en la estructura y composición de las comunidades de plantas (Marrs et al., 1989). Por lo tanto, es posible que la exposición al herbicida pueda afectar a remanentes de ambientes semi-naturales dentro de los paisajes de la agricultura moderna que albergan muchas especies de plantas y animales nativos (Gove et al., 2007). Bajo condiciones ideales de pulverización y métodos de aplicación adecuados, la deriva de la pulverización total (es decir, la porción que se rocía fuera del área tratada) es muy baja (1-2% del volumen aplicado), pero los fuertes vientos y los procedimientos de aplicación deficientes pueden dar lugar a la deriva de un 37% de la pulverización total (Nordby y Skuterud, 1975). Si bien estas dosis parecen bajas, se ha demostrado que la dispersión de pesticidas en concentraciones equivalentes puede causar mortalidad y suprimir el crecimiento de las plantas no-blanco que viven en las comunidades vegetales de los límites de los campos cultivados (Breeze et al., 1992; Dixon et al., 2002; Marrs et al., 1989, 1993).

Por otro lado, la aplicación simultánea de siembra directa, las escasas rotaciones de cultivos y el uso indiscriminado de glifosato, ha generado cambios en la flora de malezas asociadas a los cultivos (Monquero, 2003; Powles, 2008; Rodríguez, 2004). En la actualidad, la base de datos global www.weedscience.org ha registrado 32 especies diferentes de malezas tolerantes a glifosato (Heap, 2015). Podría decirse que la reacción a estos desafíos

recientes ha contribuido, en parte, a aumentar los problemas ecológicos, ya que vemos que la principal estrategia aplicada por la agroindustria ha sido desarrollar aún más modificaciones técnicas y biológicas a los cultivos agrícolas, con el fin de facilitar la aplicación de dosis mayores de glifosato (Cuhra, 2015).

Una serie de análisis de la composición de las muestras de soja de las principales zonas de producción en EE.UU. y Argentina determinó que, en este tipo de cultivo transgénico, tolerante al glifosato, se acumulan niveles sorprendentemente altos de residuos de glifosato (Bohn et al., 2014), incluso muy por encima de los límites máximos permitidos para soja en la actualidad (Cuhra, 2015). Es decir, los consumidores están ingiriendo cada vez más residuos de glifosato a través de distintos alimentos. Al tratarse de un herbicida bioactivo, interactúa con la biomasa vegetal y, finalmente, entra en los sistemas de suelo y agua a través de procesos tales como la deriva, la lixiviación y la escorrentía superficial (Mensah et al., 2012). El glifosato está presente en las aguas subterráneas, la orina humana y animal, la leche materna humana, y la carne de los animales de cría (Borggaard y Gimsing, 2008; Honeycutt y Rowlands, 2014; Krüger et al., 2013, 2014; Niemann et al., 2015). La escasez de datos publicados sobre residuos de glifosato acentúa la importancia de investigar más a fondo la dinámica de la degradación del glifosato y su transformación en las plantas (Cuhra et al., 2016) y, en particular, en aquellas no-blancas.

En Argentina, entre 1996 y 2011, el constante crecimiento del uso de glifosato se debió tanto al avance del cultivo de soja transgénica en el país, en los últimos 15 años se triplicó, (Giarracca y Teubal, 2013); como a la creciente tolerancia y resistencia de las malezas al glifosato, lo cual provoca, como ya mencionamos, que se incrementen las dosis en los cultivos. Sin embargo, no se conocen aún las consecuencias de la aplicación directa o indirecta de glifosato sobre especies vegetales nativas del Bosque Chaqueño que están repetidamente expuestas a este herbicida en el transcurso de varias estaciones de crecimiento y durante varias generaciones.

Finalmente, cabe señalar que el presente trabajo de Tesis toma también relevancia técnica, considerando el actual paradigma científico, tecnológico, institucional y productivo instalado en la agricultura argentina, dentro del cual el modelo productivo neo-extractivista está produciendo la mayor transformación del patrimonio natural en capital económico que haya ocurrido en la historia de la región (Cáceres, 2015). Como consecuencia de este modelo de producción y de las actuales políticas de uso de los recursos naturales en la región, la expansión de los agronegocios se ha constituido como la principal causa de cambio de uso

de la tierra y, por lo tanto, de reducción de superficie de bosques nativos en la Provincia de Córdoba (Barchuk et al., 2010; Cáceres, 2015; Hoyos et al., 2013; Zak et al., 2008). Si bien en el año 2007 Argentina sanciona la Ley Nacional de “Presupuestos Mínimos de Protección Ambiental de los Bosques Nativos” (Ley Nacional N° 26.331), la situación de los bosques de la Provincia de Córdoba no solo no ha mejorado, sino que se ha agravado aún más a partir del año 2010. En ese año, se aprobó la Ley provincial de Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (Ley Provincial 9.814), la cual ofreció un marco legal y político aún más favorable para los grandes productores agropecuarios, dejando a los bosques nativos de Córdoba en un estado crítico de vulnerabilidad. En este contexto, adquiere especial relevancia la presente Tesis Doctoral, puesto que los conocimientos aportados podrían contribuir significativamente a detectar potenciales indicadores de cambio de las comunidades y de esta forma establecer prioridades y acciones adecuadas para la conservación de la biodiversidad de los escasos remanentes de Bosque Chaqueño de la Provincia de Córdoba. Estos nuevos conocimientos, junto con un ordenamiento territorial equilibrado, posibilitarían definir sistemas mixtos que combinen vegetación nativa con agricultura (Paruelo et al., 2005), y proponer alternativas a la dinámica de transformación actual de los ambientes chaqueños.

OBJETIVOS GENERALES

- a. Evaluar las relaciones existentes entre diversidad, composición y supervivencia de plantas vasculares nativas en remanentes de Bosque Chaqueño de la Provincia de Córdoba y: i) el grado de exposición de la vegetación al glifosato y ii) la sensibilidad de las especies al glifosato.
- b. Detectar potenciales indicadores de pérdida de diversidad vegetal a fin de proponer acciones adecuadas para el manejo sustentable y conservación de los bosques nativos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1. Determinar el grado de sensibilidad al glifosato en un grupo representativo de especies vegetales nativas que viven en los fragmentos de Bosque Chaqueño estudiados.

2. Determinar experimentalmente en las condiciones naturales del agroecosistema estudiado, los efectos de las pulverizaciones de glifosato en plántulas de dos especies de plantas vasculares nativas (una sensible, *Bidens subalternans* y otra tolerante, *Amphilophium carolinae*, al glifosato), situadas a diferentes distancias del borde de los fragmentos de bosque.
3. Determinar experimentalmente, en 24 especies vegetales nativas, los efectos de diferentes concentraciones de glifosato en plántulas de cinco y diez semanas post-emergencia, originadas a partir de semillas provenientes de fragmentos de bosque nativo con distinto grado de exposición al glifosato.
4. Describir y cuantificar la diversidad, composición y supervivencia de las plantas vasculares nativas presentes en fragmentos de Bosque Chaqueño de distintos tamaños y cantidad de superficie cultivada en el paisaje circundante.
5. Analizar las relaciones entre la diversidad, composición y supervivencia de especies de plantas vasculares nativas presentes en fragmentos de Bosque Chaqueño y: i) la sensibilidad de las plantas al glifosato y ii) el grado de exposición a este herbicida (considerando el área de los fragmentos de bosque y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento).

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

La fragmentación de ambientes naturales puede modificar la biodiversidad en las zonas afectadas (Debinski y Holt, 2000; Fahrig, 2003; McGarigal y Cushman, 2002) y ser la principal causa de pérdida de especies vegetales (Saunders et al., 1991). La presencia y persistencia de las especies vegetales en los sistemas altamente fragmentados puede estar condicionada, entre otros factores, por la configuración espacial y el área de los fragmentos resultantes de la fragmentación (por ej.: Jacquemyn et al., 2001), el incremento de la superficie cultivada en el paisaje circundante (por ejemplo, Arroyo-Rodríguez et al., 2008) y/o el impacto de diferentes usos de la tierra en la matriz de cultivo, como el efecto de los herbicidas (Sullivan y Sullivan, 2003). Considerando los antecedentes previamente expuestos, se espera que, entre otros factores, el grado de exposición al glifosato (área de los fragmentos y porcentaje de superficie cultivada en el paisaje que los circunda) y la sensibilidad de las especies a los herbicidas, condicionen la diversidad, composición y

supervivencia de las plantas en los remanentes de bosque nativo inmersos en los agroecosistemas.

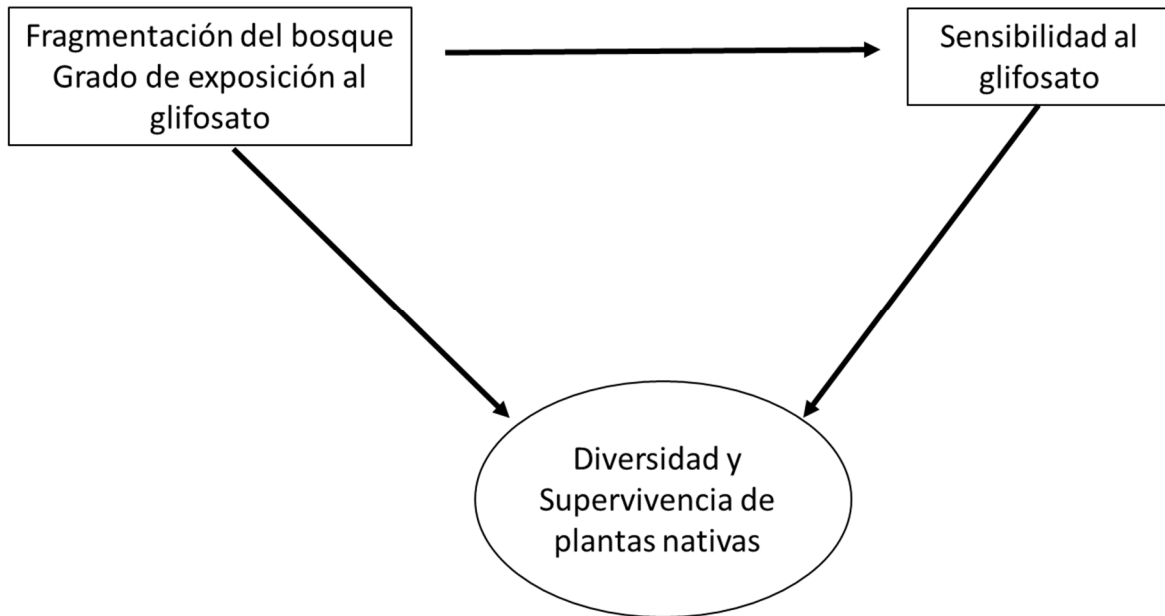


Figura 1. Modelo conceptual que describe las relaciones esperadas entre la diversidad y la supervivencia de las plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados, el grado de fragmentación del bosque nativo, el grado de exposición de la vegetación al glifosato y la sensibilidad de las especies nativas al herbicida. Se diferencian con rectángulos los factores que fueron considerados dentro del diseño experimental de la presente Tesis Doctoral.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

1. Área de estudio

El presente trabajo fue llevado a cabo en la Provincia de Córdoba, entre los años 2010 y 2015, en sitios ubicados sobre el faldeo oriental de las Sierras Chicas, en el área comprendida entre los Departamentos Colón (31°05' S, 64°16' O) y Santa María (31°45' S, 64°27' O). Se trabajó en un total de 20 fragmentos de bosque nativo de distinto tamaño y con diferentes porcentajes de superficie cultivada en el paisaje circundante (Figura 1). Los fragmentos escogidos se categorizaron previamente según el tamaño de su área como: pequeños (0,4 – 4ha), medianos (5 - 30ha) y grandes (más de 100ha). El criterio de selección de clases de tamaño se ajustó en base a lo utilizado en estudios previos (realizados en la misma área de estudio por miembros del grupo de trabajo) y según lo observado en la bibliografía, en trabajos de fragmentación de otras regiones, pero con un enfoque similar al presentado en esta Tesis (Arroyo-Rodríguez et al., 2008; Bogich et al., 2011). El área de cada fragmento se calculó mediante la utilización del programa Global Mapper 10.02, el cual permite realizar una medición precisa de áreas a partir de imágenes satelitales georreferenciadas. Los fragmentos de bosque se encuentran espacialmente dispersos y situados en una franja altitudinal entre los 300 y 900 m.s.n.m. En la mayoría de los sitios de estudio, el grupo de Ecología Reproductiva del IMBIV (UNC-CONICET) ha realizado, en los últimos 10 años, diversos estudios sobre diversidad de plantas y otros organismos en ambientes fragmentados. En esta región, el clima es templado continental, con gran déficit de agua, lluvias moderadas a escasas y principalmente estivales, inviernos moderados y veranos cálidos (Capitanelli, 1979). Desde el punto de vista fitogeográfico, los sitios de muestreo se ubican dentro del Dominio Chaqueño (Cabrera, 1976), caracterizado por la presencia de un bosque de densidad variable según características micro-climáticas y con una predominancia de especies xerófitas caducifolias (Luti et al., 1979). Históricamente esta región se encontraba dominada por bosques xerófilos semi-caducifolios de especies arbóreas tales como *Prosopis* spp., *Aspidosperma quebracho-blanco*, *Acacia* spp., *Celtis ehrenbergiana* y sotobosques con numerosas especies arbustivas y herbáceas (Cabido y Zak, 1999; Gavier y Bucher, 2004; Luti et al., 1979). Sin embargo, en las últimas décadas estos bosques han sido drásticamente degradados, principalmente como consecuencia del avance de la frontera agrícola y la expansión urbana. Estos factores han provocado que, en la actualidad, el Bosque Chaqueño del centro de Argentina haya quedado reducido a tan solo

relictos de vegetación nativa, dispersos en un paisaje de vegetación cultural (Barchuk et al., 2010; Zak et al., 2004).

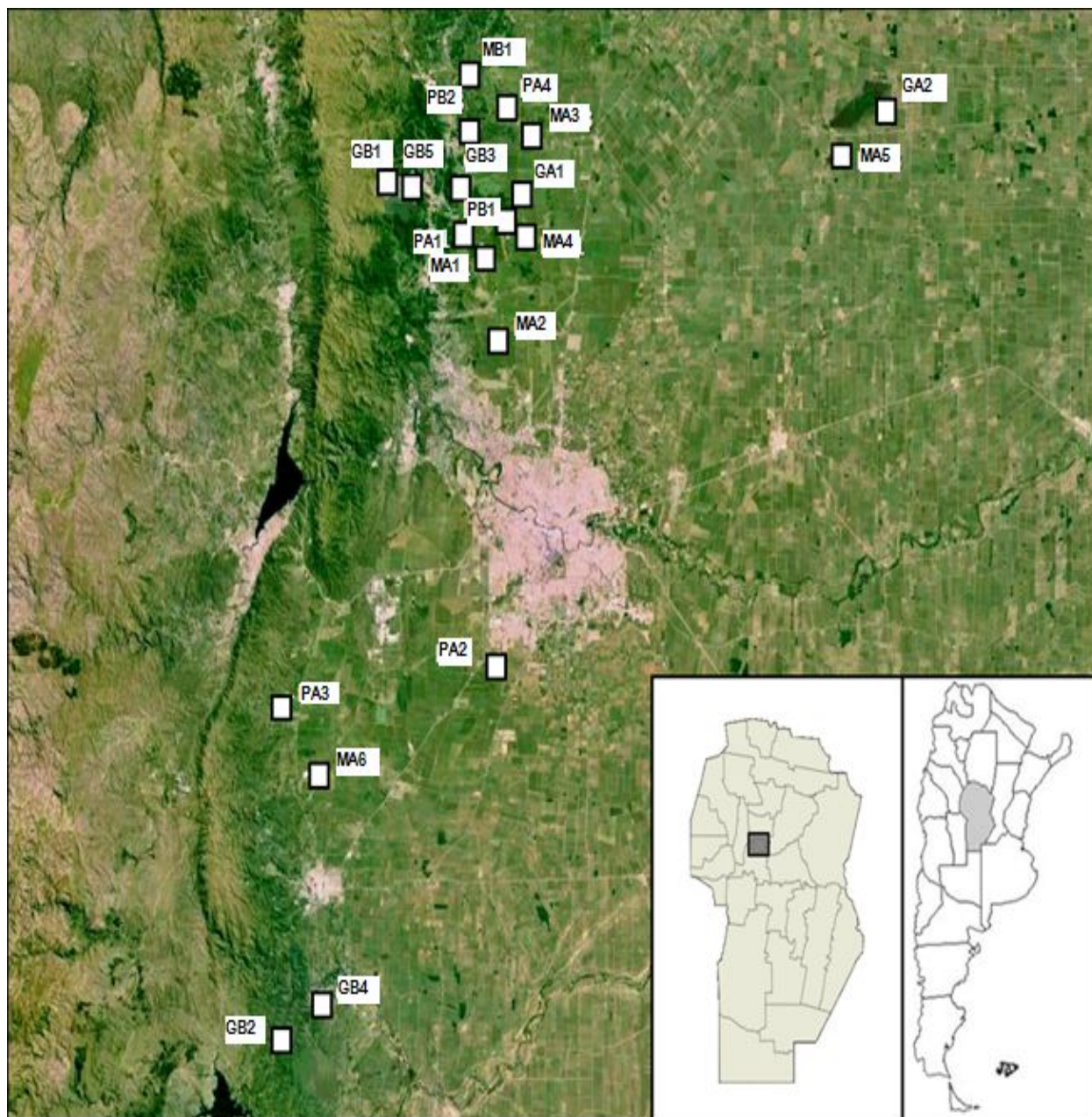


Figura 1: Área de estudio donde se muestra la ubicación geográfica de los 20 fragmentos de bosque estudiados. Las características particulares de cada sitio pueden consultarse en la Tabla 2.1.

2. Caracterización de los sitios de estudio

a) Edad de los fragmentos de bosque y matriz circundante: A fin de determinar el tiempo aproximado de aislamiento transcurrido desde el momento en el cual los fragmentos de bosque quedaron conformados, se realizaron entrevistas semi-estructuradas a los dueños o encargados de los campos. Con la utilización de esta técnica etnográfica, se recopiló información sobre la historia de uso de la tierra en los sitios y sobre la conformación de los agroecosistemas, tal como se encuentran en la actualidad. Se indagó, además, acerca de la historia del lugar en los últimos 50 años, particularmente sobre eventos de remoción de cobertura vegetal (tala y desmontes), la ocurrencia de incendios o cualquier otro evento que pudiese haber modificado la vegetación de los sitios. Además, se consiguieron imágenes satelitales y fotografías aéreas de los sitios de estudio, que permitieron visualizar y comparar la cobertura vegetal del área de estudio a partir del año 1970. Con estos datos y la información aportada por las entrevistas, se estimó la edad (en años) de los remanentes de bosque, como medida aproximada del aislamiento temporal de los fragmentos de bosque considerados. Además de la información aportada por las entrevistas, se registraron a campo datos del tipo de cobertura vegetal y uso de la tierra en la matriz en la que se encontraba incluido cada fragmento. En el caso en que la cobertura correspondiera a vegetación cultural, se tomó nota del tipo de cultivo (Tabla 1).

b) Pérdida de bosque nativo y superficie cultivada en el paisaje: A partir del procesamiento de imágenes satelitales Landsat 5 del área de estudio, se llevó a cabo una clasificación supervisada mediante la utilización del programa ENVI 4.3 y se obtuvo un mapa de cobertura para el área de estudio (Figura 2). Para llevar a cabo dicha clasificación, se calculó el índice de vegetación de diferencia normalizada, también conocido como NDVI, el cual permite identificar con mayor precisión la cantidad, calidad y desarrollo de la vegetación de un sitio determinado, en base a la medición de la intensidad de la radiación emitida o reflejada por la vegetación. Mediante el uso de datos georreferenciados de la vegetación presente en cada fragmento y la información proveniente del índice NDVI, se obtuvo un mapa de cobertura con las distintas clases de vegetación presentes en el área de estudio, con especial énfasis en la discriminación entre las clases de bosque y vegetación cultural.

A fin de determinar el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento de bosque, en los mapas de cobertura, se realizaron recortes de 2 x 2km alrededor de cada uno de los fragmentos de menor tamaño (de 0,5 a 50ha) y áreas de 8 x 8km para los

fragmentos más grandes ($\geq 100\text{ha}$). El criterio de selección de los tamaños de los paisajes se ajustó de esta manera (dos áreas diferentes), de tal manera que los fragmentos de bosque ocuparan no más de un 30% del área considerada. Es decir, un tamaño suficientemente grande que permitiera el estudio de la cobertura vegetal del fragmento y de un área circundante suficientemente grande, para poder caracterizar el porcentaje de cobertura de bosque y de otras clases de cobertura.

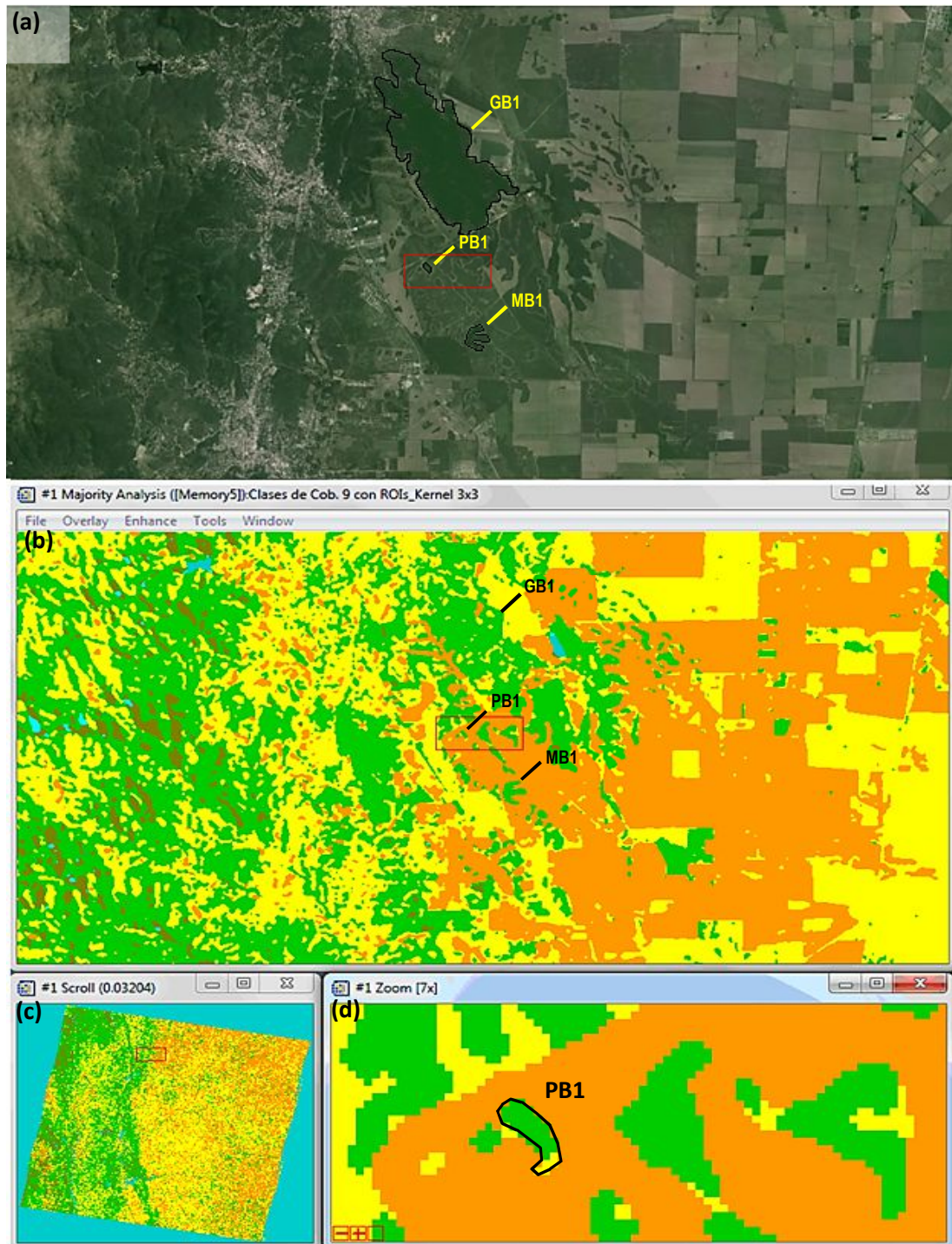


Figura 2: Análisis y clasificación de clases de cobertura vegetal. (a) Imagen satelital ampliada de una de las áreas de estudio, mostrando tres de los fragmentos de bosque analizados. (b) Mapa de clasificación obtenido luego del procesamiento de la imagen satelital donde se evidencian las diferentes clases de cobertura obtenidas (verde: bosque, amarillo: cultivo, naranja: suelo labrado, marrón: pastizales y celeste: cuerpos de agua). En la imagen (c) se observa el producto final de la clasificación de una imagen Landsat 5 luego de la clasificación y en la imagen (d) un detalle ampliado, mostrando uno de los fragmentos estudiados.

Vale la pena destacar que este criterio es similar al observado en otros trabajos sobre el tema (por ejemplo, Arroyo-Rodríguez et al., 2008). Los recortes del mapa de cobertura fueron guardados en formato ASCII y se utilizó el programa Fragstats versión 3.3 para calcular las métricas de cada paisaje (porcentajes de superficie cultivada alrededor de cada fragmento de bosque, Tabla 1). Se calculó, además, el área de los fragmentos de bosque (Tabla 1) mediante la utilización del programa Global Mapper 10.02

Código del sitio	Coordenadas	Área (ha)	Superficie cultivada en el paisaje (%)	Edad (años)
PA1	31° 45' 45,2" S 64° 27' 31,8" O	4,11	75,48	35
PA2	31° 29' 26,1" S 64° 14' 29,3" O	1,18	77,96	20
PA3	31° 31' 23,2" S 64° 27' 33,6" O	2,74	76,97	20
PB1	31° 11' 18,0" S 64° 14' 16,8" O	0,41	46,99	40
PA4	31° 07' 10,8" S 64° 14' 15,0" O	0,90	80,00	60
PB2	31° 07' 55,8" S 64° 16' 31,2" O	1,37	54,82	30
MA1	31° 12' 41,7" S 64° 15' 36,9" O	18,51	88,68	35
MA2	31° 17' 02,9" S 64° 13' 58,3" O	18,62	87,08	40
MA3	31° 07' 56,3" S 64° 13' 31,7" O	21,27	83,49	30
MA4	31° 11' 19,0" S 64° 13' 44,1" O	5,09	70,16	40

MB1	31° 05' 35,5" S 64° 16' 29,3" O	20,43	20,16	30
MA5	31° 08' 45,6" S 63° 53' 41,1" O	16,38	81,08	40
MA6	31° 34' 45,0" S 64° 26' 37,1" O	28,39	85,70	60
GB1	31° 09' 35,0" S 64° 21' 06,6" O	1077,00	52,74	>100
GA1	31° 11' 12,6" S 64° 14' 19,2" O	111,60	79,09	40
GA2	31° 06' 34,2" S 63° 52' 47,9" O	827,00	84,79	40
GB2	31° 45' 45,2 S 64° 27' 31,8" O	401,90	30,18	>100
GB3	31° 10' 58,0" S 64° 15' 30,1" O	599,00	62,98	35
GB4	31° 44' 54,3" S 64° 16' 24,0" O	202,60	34,38	25
GB5	31° 09' 32,2" S 64° 20' 43,8" O	1077,00	52,74	>100

Tabla 1. Características de los fragmentos de bosque respecto a los factores considerados. Los códigos para cada fragmento corresponden al tamaño (P: pequeños, M: medianos o G: grandes), la cantidad de superficie cultivada en el paisaje circundante (A: alta y B: baja) y el número de réplica.

Las metodologías específicas empleadas para cada uno de los objetivos propuestos en la presente Tesis, se detallan en la sección Materiales y Métodos de cada uno de los capítulos correspondientes.

CAPÍTULO I

EFECTOS DEL HERBICIDA GLIFOSATO EN ESPECIES DE PLANTAS NATIVAS NO BLANCO DEL BOSQUE CHAQUEÑO DE ARGENTINA

INTRODUCCIÓN

La agricultura basada en semillas transgénicas (en particular la soja) se ha expandido hacia áreas anteriormente ocupadas por bosques nativos del Chaco y el glifosato se ha convertido en el principal agroquímico utilizado en Argentina (Cáceres, 2015). La pérdida de biodiversidad debido a la transformación de los ecosistemas naturales en tierras destinadas al agronegocio es considerada como uno de los principales impactos que los cambios en el uso de la tierra han producido (Ammann, 2005; Hails, 2002; Sanvido et al., 2007). En las regiones no pampeanas de la Argentina central, este modelo neo-extractivista se asentó desde los años noventa y está produciendo la mayor transformación del patrimonio natural que haya ocurrido en la historia de la región (Cáceres, 2015). Por ejemplo, la Provincia de Córdoba (Argentina) perdió más del 95% de su cobertura forestal original (Barchuk et al., 2010; Hoyos et al., 2013; Piquer-Rodríguez et al., 2015; Zak et al., 2008)

El glifosato (*N*-(phosphonomethyl)glycine) es un herbicida sistémico, no selectivo, que ha transformado la agricultura y es el más utilizado en el mundo (Baylis, 2000).). A pesar de que el glifosato fue considerado la alternativa menos tóxica al control de malezas, hoy en día su uso es polémico, ya que hay investigaciones cada vez mayores sobre los efectos ecotoxicológicos profundos de este herbicida en la biodiversidad de los agroecosistemas (Bourguet y Guillemaud, 2016; Cuhra et al., 2016). Por ejemplo, se han encontrado efectos directos del glifosato sobre la actividad de microorganismos y hongos (por ej., Bórtoli et al., 2012; Druille et al., 2013; Meriles et al., 2008; Pérez et al. 2007), invertebrados (por ej., Cuhra et al., 2013). anfibios (por ej., Cauble y Wagner, 2005; Howe et al., 2004; Lajmanovich et al., 2003; Mann y Bidwell, 1999; Perkins et al., 2000; Relyea 2005 b; Smith et al., 2001;) y peces (Cavalcante et al., 2008; Glusczak et al., 2007; Jiraungkoorskul et al., 2003; Shao y Kole, 2004; Soso et al., 2007; Szarek et al., 2000). En mamíferos silvestres, domésticos y humanos,

numerosos datos experimentales revelan que varios componentes de los plaguicidas tienen efectos teratogénicos, genotóxicos y muestran asociaciones con diversas patologías (Bernardi et al., 2015; Caglar y Kolayanka, 2008; Dallegrave et al., 2003; López et al., 2012; Mañas et al., 2009 a b; 2013; Monroy et al., 2005).

En las plantas vasculares, se ha demostrado que los principios activos del glifosato se translocan tanto por el xilema como por el floema, y se distribuyen con rapidez por toda la planta, inhibiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos, e interfiriendo en otros procesos metabólicos (Cuhra et al., 2016). Los efectos resultantes sobre las especies sensibles se pueden observar en cualquiera de las siguientes cuatro maneras: a) en plántulas puede observarse detención del crecimiento y clorosis en las hojas, seguida de necrosis de tejidos y marchitez, b) las mismas plantas pueden expresar efectos negativos en la producción de semillas en las etapas posteriores, c) las plantas cuando son pulverizadas en la fase reproductiva, pueden tener afectada su producción de semillas o d) las partes vegetativas de la generación F1 pueden ser afectadas (Boutin et al., 2014).

Si bien los herbicidas se utilizan en el área agrícola para controlar ciertas especies de plantas (plantas blanco) que compiten por los recursos con las plantas del cultivo, concentraciones letales y subletales de herbicida pueden llegar a plantas que viven en los ambientes naturales inmersos en los agroecosistemas. Se denomina plantas no-blanco, a aquellas plantas no cultivadas ubicadas fuera de las áreas de tratamiento (Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas, 2003). Los herbicidas pueden llegar a contactar estas plantas durante o después de la aplicación produciendo efectos directos, a través de la toxicidad, o indirectos, mediados, por ejemplo, por la competencia entre las especies, el reclutamiento de las plantas (vegetativo o de la semilla) o la presión diferencial de herbívoros o simbioses, en particular, micorrizas (Carey et al., 1992; Marshall y Breeze, 1999).

El contacto entre las plantas no-blanco y los herbicidas puede ocurrir a través de la deriva de pulverización fuera del objetivo, pulverización excesiva, entre otros (Conacher y Conacher, 1986; Eker et al, 2006; Marrs et al., 1989). Normalmente y bajo las condiciones meteorológicas recomendadas de aplicación, la deriva es un pequeño porcentaje del volumen total de la solución de pulverización. Sin embargo, se ha demostrado que la deriva fuera del objetivo puede causar mortalidad y la supresión del crecimiento de especies sensibles de plantas que están en las comunidades naturales adyacentes a los campos de cultivo (Gove et al., 2007; Marrs et al., 1993). En este sentido, un estudio realizado en mesocosmos en

invernadero y en el campo de ocho especies, mostró un aumento en la mortalidad y reducción de la biomasa, la fecundidad y la supervivencia de todas las especies de plantas tratadas con concentraciones de herbicidas semejantes a las presentes en la deriva de la pulverización (Riemens et al., 2008). La exposición de bajo nivel a las dosis subletales de herbicidas puede resultar en impactos negativos a largo plazo sobre la estructura y diversidad de la comunidad vegetal (Boutin et al., 2004; De Snoo, 1999; De Snoo y Van der Poll, 1999; De Snoo et al., 2003; Huang et al., 2005; Jobin et al., 1997; Kleijn y Snoeijing, 1997; Londo et al., 2014; Marrs et al., 1989; Marrs y Frost 1997; Sullivan et al., 1996). Estos hallazgos son de gran preocupación en relación con la conservación de la biodiversidad, ya que algunas especies silvestres pueden ponerse en peligro en un futuro próximo (Schmitz et al., 2013) o especies en peligro de extinción pueden desaparecer (Schmitz et al., 2014).

Al mismo tiempo, el uso continuo de glifosato puede producir cambios en la flora de malezas asociada a los cultivos debido a que se crean condiciones ambientales negativas extremas para el crecimiento y desarrollo de la vegetación (Monquero, 2003; Rodriguez, 2004). En este sentido, el uso intenso de glifosato ha producido el aumento de algunas especies que no estaban presentes en los cultivos, que en muchos casos tienen un alto nivel de tolerancia o resistencia al glifosato (Vitta et al., 2004). De esta manera, la deriva de glifosato en especies de plantas no cultivadas puede ejercer una presión de selección sostenida a lo largo del tiempo en especies de plantas no cultivadas, lo que puede promover la selección de poblaciones con biotipos tolerantes al glifosato (Baucom, 2016; Powles, 2008).

La elección de estrategias de reducción o de erradicación de malezas en reemplazo de estrategias de prevención y contención se vio favorecida no sólo por factores tecnológicos, como la eficacia de los principios activos y la tecnología de aplicación, sino también por factores económicos y socioculturales como la disminución de los costos relativos, el aumento de la escala productiva y las características de los actores involucrados en el proceso de producción. A pesar de la continua generación y sustitución de diversos herbicidas en las últimas dos décadas no fue posible erradicar a las malezas sino que por el contrario se seleccionaron biotipos tolerantes y/o resistentes a algunos principios activos (Tuesca et al., 2010). En Argentina, se ha encontrado tolerancia (o resistencia) al glifosato en muchas especies que no estaban presentes en los cultivos, por ejemplo: *Sorghum halepense* (Tuesca et al., 2007), *Lolium multiflorum* (Diez De Ulzurrun y Leaden, 2012; Vigna et al., 2008), *L. perenne* (Vigna et al., 2008), *Gomphrena perennis* (Nisenshon et al., 2007), *Conyza bonariensis* (Cortés y Venier, 2012; Metzler et al., 2011; Puricelli et al., 2015; Puricelli y

Tuesca, 2005), *Conyza sumatrensis* (Metzler et al., 2011; Puricelli y Tuesca, 2005), *Commelina erecta* (Papa y Randazo, 2007; Rainero, 2004), *Iresine diffusa* (Rainero, 2004), *Parietaria debilis* (Dellaferrera, 2013; Papa y Puricelli, 2003), *Petunia axillaris* (Dellaferrera, 2013), *Ipomoea purpurea* (Papa, 1997; Vidal et al., 2010) y *Portulaca gilliesi* (Nisensohn et al., 2007). Aunque la sensibilidad diferencial de las plantas al glifosato aún no se entiende completamente (Baucom, 2016; Norsworthy et al., 2001), algunos estudios evidenciaron el potencial de dosis bajas de herbicida para seleccionar rápidamente altos niveles de resistencia (Neve, 2007; Sammons y Gaines, 2014). Sin embargo, aún se desconocen las consecuencias de la aplicación de glifosato en especies de plantas nativas del bosque del Chaco, que fueron repetidamente expuestas a este herbicida durante los últimos años.

Este trabajo adquiere gran relevancia tanto agronómica como ecológica ya que los efectos de dosis letales y subletales de glifosato pueden, al mismo tiempo, promover la selección de nuevos biotipos de malezas tolerantes a este herbicida y producir pérdida de biodiversidad en relictos forestales nativos. En este contexto, el objetivo principal de este Capítulo fue determinar experimentalmente los efectos de diferentes concentraciones de glifosato en 23 especies nativas presentes en remanentes de bosque nativo inmersos en agroecosistemas del centro de Argentina.

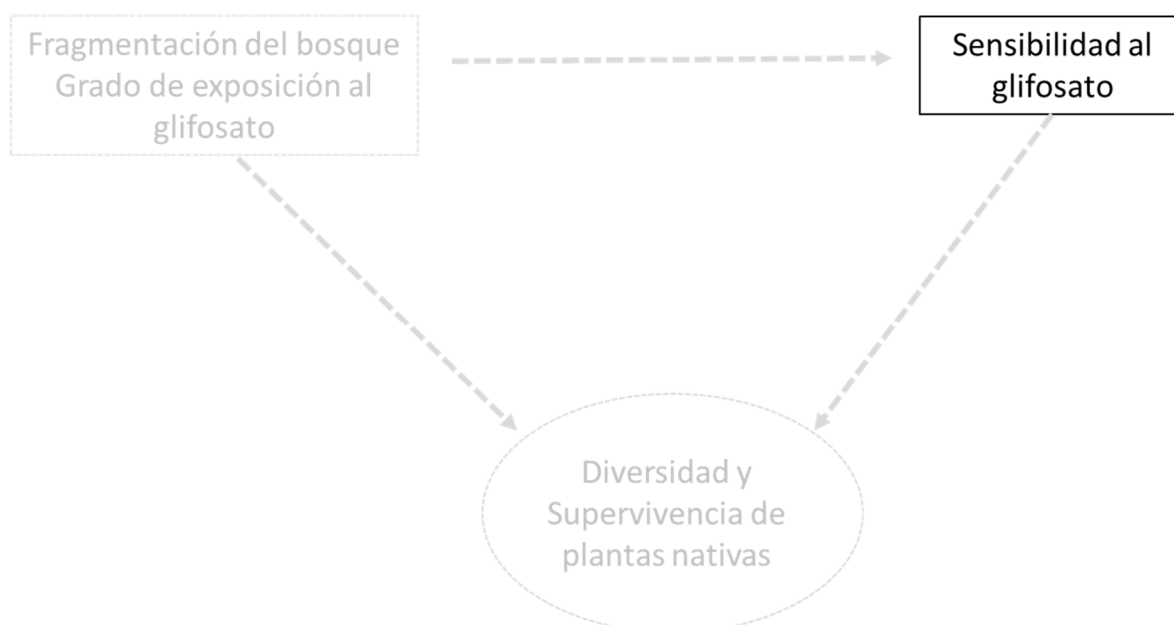


Figura 1. Modelo conceptual que describe las relaciones esperadas entre la diversidad y la supervivencia de las plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados, el grado de fragmentación del bosque nativo, el grado de exposición al glifosato, y la sensibilidad de las especies

nativas al herbicida. Se resalta el factor que será abordado en el Capítulo I, se evaluará la sensibilidad al glifosato de un grupo de especies de plantas nativas del Bosque Chaqueño.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Especies estudiadas

En la Tabla 1.1 se detallan las 23 especies de plantas nativas testeadas en este estudio para determinar su sensibilidad al herbicida glifosato. Las especies se seleccionaron con el objetivo de abarcar una diversidad de características respecto a: a) familias botánicas (Asteraceae, Solanaceae, Convolvulaceae, Phytolaccaceae, Passifloraceae, Poaceae, Amaranthaceae, Malvaceae, Celtidaceae, Fabaceae, Sapindaceae y Bignoniaceae, b) hábitos (hierbas, arbustos, enredaderas, lianas y árboles), c) forma de vida (anuales y perennes) y d) fenología reproductiva. Para determinar el estatus (i.e., nativa o no nativa) de cada especie se tomó como referencia la base de datos de la Flora del Cono Sur (<http://www2.darwin.edu.ar>).

Las semillas de estas especies fueron colectadas en los 20 relictos de Bosque Chaqueño situados en la Provincia de Córdoba, en los Departamentos Santa María, Colón y Capital, descriptos en la sección de Materiales y Métodos Generales. Estos relictos de bosque se encuentran inmersos en matrices agrícolas, en las cuales se siembra soja, y se aplica en forma regular glifosato como principal herbicida. Se colectaron en el campo semillas de 10 individuos de cada especie. Las semillas se sembraron en germinadores de plástico, con una mezcla 2:1 de tierra y arena estériles. Los germinadores se mantuvieron en cámaras de germinación, con riego periódico y bajo condiciones homogéneas de luz, temperatura y humedad (16h de luz y 8h de oscuridad, 25°C y 60% de humedad). Una vez germinadas las plántulas, se dejó sólo una en cada cubículo de los germinadores.

2. Aplicación de glifosato

Cuando las plántulas poseían entre 2 y 4 hojas definitivas (aproximadamente 4 semanas posteriores de haber sido sembradas) fueron asignadas, aleatoriamente, a seis tratamientos independientes, con concentraciones crecientes de glifosato 70% (Credit Full, Nufarm, sal potásica de glifosato 66,2% p/v). En total fueron tratadas 432 plántulas, 18 plántulas correspondientes a cada una de las 23 especies, asignando 3 plántulas para cada

uno de los tratamientos con glifosato: 0X (control, sin aplicación de glifosato); 0.25X; 0.5X; 1X; 2X y 4X, siendo X la dosis media aplicada en el campo: 3l ha⁻¹ (2100 g ai/ha).

Las plántulas fueron trasladadas desde el invernadero hasta una parcela aislada, en donde se realizaron las pulverizaciones de glifosato. El herbicida fue aplicado con una pulverizadora manual experimental de presión previa marca Giber H9 (9l), que permitió la aplicación a presión constante, a razón de un volumen de 100 l/ha (pastillas abanico plano XR11002 a presión de 35 lbs pulg⁻²). Esta presión fue regulada a fin de simular, lo mejor posible, las pulverizaciones que se realizan habitualmente en los cultivos. Las plántulas fueron trasladadas nuevamente al invernadero, 24h posteriores al tratamiento con el herbicida.

3. *Valoración de los efectos del glifosato*

3.1 *Valoración cualitativa*

Luego de 21 días de la aplicación del herbicida, se realizaron observaciones visuales en las plántulas a fin de determinar el nivel de la afección de acuerdo a la manifestación de síntomas de fitotoxicidad: clorosis, daño foliar y/o marchitez (Riemens et al., 2008). De esta forma, las especies fueron clasificadas en cinco categorías, según el porcentaje promedio de daño observado en las plántulas tratadas con cada una de las dosis de glifosato. Las categorías utilizadas fueron: 1) ausencia de fitotoxicidad (0% de daño), 2) fitotoxicidad leve (1-30% de daño, clorosis leve), 3) fitotoxicidad media (31-69% de daño, marcada clorosis, necrosis leve a moderada), 4) fitotoxicidad severa (70-99% de daño, marcada clorosis, necrosis severa y marchitez) y 5) muerte (100% de daño).

3.2 *Valoración cuantitativa*

Después de 21 días de la aplicación, se procedió a valorar la respuesta a dosis crecientes del herbicida mediante la medición del peso seco de las plántulas tratadas y el cálculo de su correspondiente reducción del crecimiento. Se cosecharon las partes aéreas de las plántulas tratadas, las cuales se secaron en estufa a 40°C, por un período de 72h. Cada individuo fue pesado en una balanza de precisión de 0,0001g, y con los valores de peso seco obtenidos de todos los individuos de cada especie, se procedió a calcular la reducción del crecimiento para cada especie tratada (diferencia de peso seco entre las

plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato). Con los valores de reducción de crecimiento se construyó una curva de dosis-respuesta para cada especie (Seefeldt et al., 1995) y se calculó la dosis de glifosato que causó el 50% de reducción del crecimiento (RC_{50}). El valor de RC_{50} representa, por lo tanto, la dosis de herbicida requerida para disminuir el crecimiento en un 50% en relación con el crecimiento del testigo sin tratar (Valverde et al., 2000).

Los valores de RC_{50} se usan para comparar las especies, así la razón de la RC_{50} de una especie de sensibilidad desconocida sobre la RC_{50} de la especie de referencia más susceptible se denomina Índice de Sensibilidad (IS): $IS = RC_{50} \text{ población analizada de una especie} / RC_{50} \text{ población de la especie de referencia más susceptible}$ (Valverde et al., 2000).

En este trabajo, la especie más susceptible al glifosato fue *Bidens subalternans* por lo cual se utilizó su RC_{50} como referencia para calcular el IS de cada una de las especies tratadas.

4. *Análisis de los datos*

Para comparar la fitotoxicidad y la reducción del crecimiento de las plántulas tratadas con diferentes dosis de glifosato, se realizaron análisis de la varianza con el programa estadístico R (<http://www.R-project.org>), tomando como variable independiente la dosis de glifosato empleada en cada tratamiento (0X; 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X). En el caso de la valoración cualitativa, la variable de respuesta considerada fue el porcentaje de fitotoxicidad observado en cada especie, con cada dosis de glifosato. En el caso de la valoración cuantitativa, la variable de respuesta considerada fue la reducción del crecimiento de las plántulas de cada especie, con cada dosis de glifosato. Las comparaciones *a posteriori* fueron realizadas utilizando el test de Tukey para comparar la diferencia de medias.

RESULTADOS

1. *Efectos del glifosato según valoración cualitativa*

Los primeros síntomas del efecto del glifosato sobre las plántulas comenzaron a observarse visualmente a los cinco días después de la aplicación del herbicida. Estos síntomas se hicieron más severos con el paso del tiempo, lo cual puede ser explicado por el carácter sistémico de este herbicida, el cual puede seguir produciendo efectos incluso 20 días después de su aplicación. El síntoma más evidente con la aplicación de dosis bajas fue clorosis (manchas amarillas sobre las hojas). Con la aplicación de dosis altas se observó, principalmente, necrosis de tejidos, marchitez y muerte. De acuerdo a la manifestación de síntomas de fitotoxicidad, se clasificaron las especies tratadas en cinco categorías, según el nivel de clorosis, daño foliar o marchitez observado. Los resultados muestran que las pulverizaciones produjeron fitotoxicidad en todas las especies tratadas (Figura 1.1).

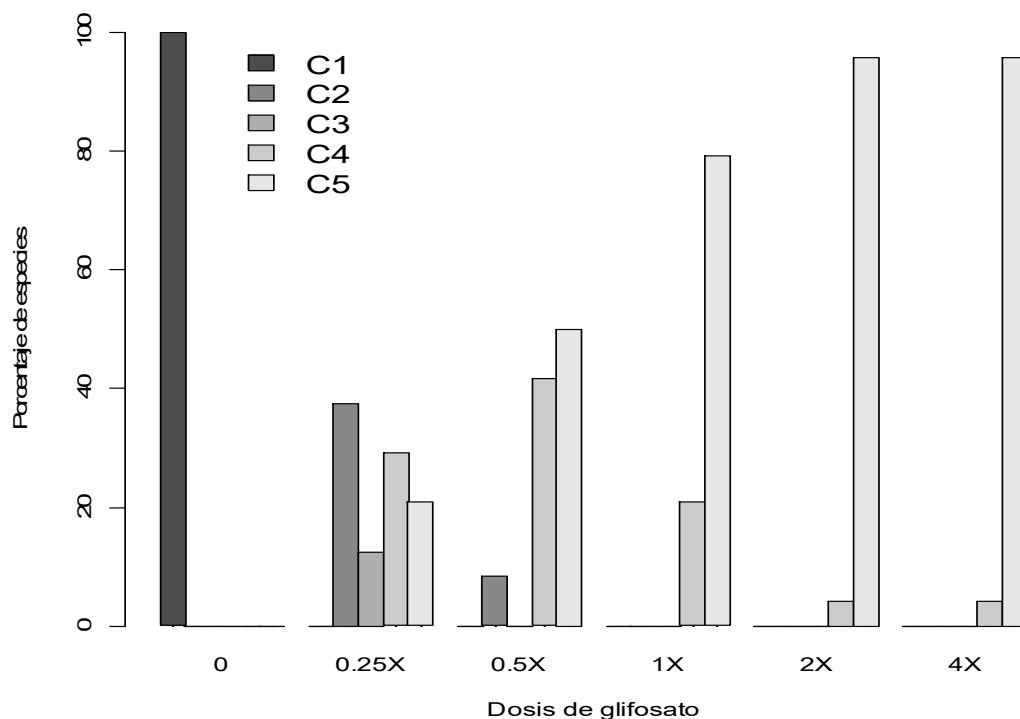


Figura 1.1. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas de 23 especies de plantas nativas no blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (X = 3 l/ha). Las barras muestran el porcentaje de especies tratadas en las que se observó cada categoría de

fitotoxicidad, para cada uno de los tratamientos con glifosato (0X; 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X). Categorías de Fitotoxicidad: **C1**) ausencia de fitotoxicidad (0% de daño); **C2**) fitotoxicidad leve (1-30% de daño); **C3**) fitotoxicidad moderada (31-69% de daño); **C4**) fitotoxicidad severa (70-99% de daño); **C5**) muerte (100% de daño). Las plántulas fueron pulverizadas luego de cinco semanas post-emergencia. Los síntomas de fitotoxicidad fueron registrados 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre las plántulas de 23 especies.

En general, los síntomas de fitotoxicidad fueron mayores a medida que aumentó la dosis de glifosato aplicada (Tabla 1.1). Además, se observó que todas las dosis empleadas (incluso aquella que representa $\frac{1}{4}$ de la utilizada habitualmente en el campo) produjeron daños en las plántulas. El 50% de las especies tratadas presentó fitotoxicidad severa o muerte con $\frac{1}{4}$ de la dosis utilizada en el campo (la totalidad de individuos de 4 especies murieron con esta dosis). El 100% de las especies tratadas presentó fitotoxicidad moderada, severa o muerte con la dosis media utilizada en el campo (1X, Figura 1.1)

TABLA 1.1. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: fitotoxicidad en 23 especies de plantas nativas no blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos muestran el porcentaje promedio de daño observado en las plántulas tratadas con cada una de las dosis de glifosato y su correspondiente desvío estándar ($\pm\text{DE}$). El porcentaje de daño en las plántulas fue determinado de acuerdo a la manifestación de síntomas de clorosis, daño foliar, marchitez y/o muerte respecto al control. En las plántulas utilizadas como control para cada especie no se observó ninguno de los síntomas de fitotoxicidad considerados en este trabajo. Las observaciones visuales fueron realizadas 21 días post-tratamiento. Las especies fueron ordenadas en orden decreciente de fitotoxicidad observada con la aplicación de la dosis media de campo (1X).

Análisis cualitativo: fitotoxicidad (%)

Especies	Control	Tratamientos con glifosato				
	0X	0.25X	0.5X	1X	2X	4X
<i>Solanum argentinum</i>	0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0
<i>Passiflora morifolia</i>	0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0
<i>Bouteloua curtipendula</i>	0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0
<i>Solanum palinacanthum</i>	0 \pm 0	73.3 \pm 5.8	96.7 \pm 2.9	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0
<i>Setaria pampeana</i>	0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0	100.0 \pm 0

<i>Bidens subalternans</i>	0 ± 0	91.7 ± 2.9	98.3 ± 2.9	98.3 ± 2.9	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Baccharis glutinosa</i>	0 ± 0	53.3 ± 5.8	86.7 ± 12.6	98.3 ± 2.9	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Chromolaena hookeriana</i>	0 ± 0	85.0 ± 5.0	96.7 ± 2.9	96.7 ± 5.8	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Jarava ichu</i>	0 ± 0	73.3 ± 5.8	95.0 ± 5.0	96.7 ± 2.9	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Fleishmannia prasiifolia</i>	0 ± 0	75.0 ± 5.0	96.7 ± 2.9	96.7 ± 2.9	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Rhynchosia edulis</i>	0 ± 0	25.0 ± 5.0	88.3 ± 12.6	96.7 ± 2.9	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	0 ± 0	28.3 ± 7.6	85.0 ± 13.2	95.0 ± 5.0	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Amelichloa brachychaeta</i>	0 ± 0	28.3 ± 7.6	88.3 ± 10.4	95.0 ± 5.0	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Celtis ehrenbergiana</i>	0 ± 0	53.3 ± 2.9	78.3 ± 15.3	93.3 ± 5.8	98.3 ± 2.9	100.0 ± 0
<i>Ipomoea nil</i>	0 ± 0	68.3 ± 2.9	81.7 ± 2.9	93.3 ± 2.9	100.0 ± 0	100.0 ± 0
<i>Piptochaetium</i> sp.	0 ± 0	25.0 ± 5.0	26.7 ± 2.9	91.7 ± 2.9	95.0 ± 5.0	100.0 ± 0
<i>Acacia aroma</i>	0 ± 0	23.3 ± 2.9	81.7 ± 16	91.7 ± 7.6	98.3 ± 2.9	100.0 ± 0
<i>Iresine diffusa</i>	0 ± 0	70.0 ± 10.0	85.0 ± 5.0	91.7 ± 2.9	96.7 ± 2.9	100.0 ± 0
<i>Sida spinosa</i>	0 ± 0	11.7 ± 2.9	73.3 ± 5.8	90.0 ± 13.2	98.3 ± 2.9	100.0 ± 0
<i>Ipomoea purpurea</i>	0 ± 0	71.7 ± 7.6	80.0 ± 5.0	90.0 ± 5.0	98.3 ± 2.9	100.0 ± 0
<i>Rivina humilis</i>	0 ± 0	23.3 ± 2.9	83.3 ± 5.8	85.0 ± 5.0	96.7 ± 2.9	100.0 ± 0
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	0 ± 0	15.0 ± 5.0	16.7 ± 2.9	78.3 ± 17.6	93.3 ± 5.8	100.0 ± 0
<i>Amphilophium carolinae</i>	0 ± 0	6.7 ± 2.9	58.3 ± 7.6	60.0 ± 5.0	68.3 ± 2.9	85.0 ± 8.6

2. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa

2.1 Reducción del crecimiento (RC_{50})

Los resultados muestran que las pulverizaciones produjeron reducción del crecimiento en todas las especies tratadas (Figura 1.2). En general, la reducción del crecimiento fue mayor a medida que aumentó la dosis de glifosato aplicada (Tabla 1.2). Además, se observó que todas las dosis empleadas produjeron reducción significativa del crecimiento ($F_{(5, 437)} = 179,78$; $p < 0.0001$), aún con $\frac{1}{4}$ de la dosis que habitualmente se usa

en el campo (Figura 1.2). La reducción del crecimiento fue en promedio 68% con $\frac{1}{4}$ de la dosis utilizada en el campo y del 75% con la dosis habitualmente usada en el campo (1X, Figura 1.2). En el Apéndice I se muestran las curvas de dosis-respuesta para cada una de las 23 especies tratadas. La especie más sensible al glifosato fue *Bidens subalternans* (Tabla 1.2), con el menor valor de RC_{50} (0,125). Este valor significa que es necesario una dosis de 0,125 L/ha⁻¹ del herbicida, para provocar una reducción del 50% del crecimiento de la biomasa de las plántulas de esta especie.

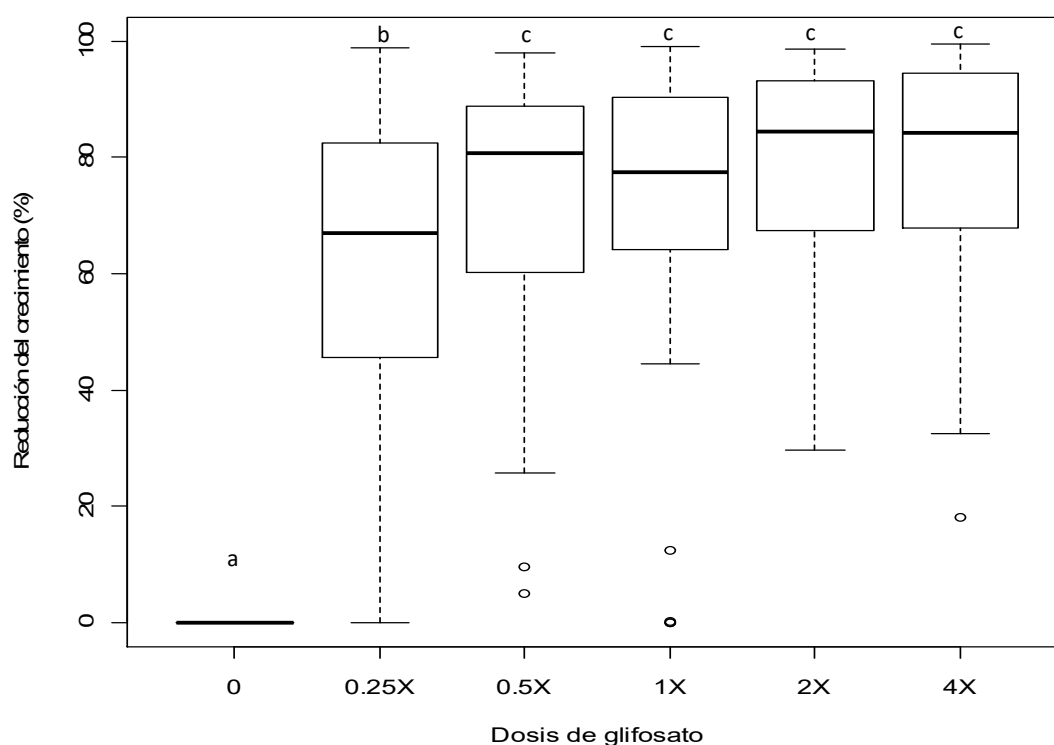


Figura 1.2. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: Reducción del crecimiento en plántulas de 23 especies de plantas nativas no blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.2 Sensibilidad al glifosato

En las 23 especies estudiadas se observó un gradiente de sensibilidad a los efectos del glifosato (Tabla 1.2). Los diferentes valores obtenidos para el Índice de Sensibilidad (IS)

indican que, entre las especies tratadas, algunas son muy sensibles al glifosato (aún con dosis inferiores a la utilizada habitualmente en el campo). En el otro extremo del gradiente se observaron especies que pueden considerarse como más tolerantes al glifosato (con valores de SI superiores a 4).

TABLA 1.2. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento en 23 especies de plantas nativas no blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos muestran los porcentajes de reducción del crecimiento respecto al control (plántulas de la misma especie en las que no se aplicó ningún tratamiento con glifosato) y su correspondiente desvío estándar ($\pm \text{DE}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. RC_{50} = dosis de glifosato requerida para disminuir el crecimiento en un 50% en relación con el crecimiento del testigo sin tratar. IS (Índice de sensibilidad) = razón entre el RC_{50} de cada especie y el RC_{50} de la especie más sensible entre las especies tratadas con dosis crecientes de glifosato. Valores de SI superiores a 1 indican menor sensibilidad al herbicida. Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Las especies fueron ordenadas en orden decreciente de sensibilidad al glifosato.

<u>Análisis cuantitativo: reducción del crecimiento (%)</u>						RC ₅₀	IS
Especies	Tratamientos con glifosato						
	0.25X	0.5X	1X	2X	4X		
<i>Bidens subalternans</i>	92.2 ± 6.9	81.0 ± 9.8	81.0 ± 18.5	82.5 ± 24.9	83.7 ± 6.5	0.125	1.00
<i>Solanum argentinum</i>	91.2 ± 2.5	96.7 ± 0.9	85.3 ± 20.9	97.1± 1.4	98.3 ± 0.2	0.130	1.04
<i>Chromolaena hookeriana</i>	92.3 ± 1.9	87.6 ± 4.2	94.0 ± 4.2	88.8 ± 4.2	83.1 ± 15.2	0.145	1.16
<i>Ipomoea purpúrea</i>	86.8 ± 13.8	85.0 ± 10.7	75.2 ± 3.5	83.4 ± 1.6	72.6 ± 35.5	0.150	1.20
<i>Rivina humilis</i>	85.6 ± 12.4	95.2 ± 3.8	97.9 ± 0.7	94.7 ± 2.3	98.1 ± 1.9	0.150	1.20
<i>Baccharis glutinosa</i>	84.3 ± 7.8x10 ⁻⁴	86.7 ± 9.2x10 ⁻⁴	88.1 ± 4x10 ⁻²	92.9 ± 1.8x10 ⁻³	96.2 ± 3.5x10 ⁻³	0.160	1.28
<i>Passiflora morifolia</i>	74.3 ± 1.4x10 ⁻⁴	60.2 ± 5.4x10 ⁻⁴	73.5 ± 9.9x10 ⁻⁴	84.9 ± 4.5x10 ⁻⁴	83.6 ± 7.8x10 ⁻⁴	0.170	1.36
<i>Amelichloa brachychaeta</i>	75.3 ± 5.5	62.7 ± 2.9	63.9 ± 4.5	88.1 ± 1.7	90.2 ± 5.6	0.175	1.40
<i>Piptochaetium</i> sp.	69.4 ± 16.3	70.3 ± 13.8	75.6 ± 5.7	76.5 ± 1.9	87.3 ± 7.6	0.180	1.44

<i>Ipomoea nil</i>	65.6 ± 1x10 ⁻²	78.1 ± 2.8x10 ⁻⁴	80.0 ± 1x10 ⁻²	96.6 ± 4.5x10 ⁻³	97.1 ± 1x10 ⁻²	0.185	1.48
<i>Iresine difusa</i>	64.5 ± 10.5	68.6 ± 25.4	89.0 ± 8.5	89.3 ± 2.8	93.8 ± 5.3	0.185	1.48
<i>Solanum palinacanthum</i>	64.8 ± 12.0	78.5 ± 19.4	78.7 ± 19.3	91.0 ± 3.9	82.7 ± 11.4	0.185	1.48
<i>Sida spinosa</i>	56.6 ± 54.1	57.1 ± 2.3	61.3 ± 0.9	67.3 ± 1.6	84.7 ± 6.6	0.200	1.60
<i>Bouteloua curtipendula</i>	60.0 ± 14.4	47.5 ± 7.1	47.5 ± 14.1	42.5 ± 10.6	48.8 ± 19.5	0.230	1.84
<i>Jarava ichu</i>	55.2 ± 23.9	72.4 ± 18.7	82.4 ± 9.1	53.8 ± 7.4	73.1 ± 21.4	0.240	1.92
<i>Celtis ehrenbergiana</i>	49.4 ± 9.0	80.4 ± 7.3	72.0 ± 11.5	76.1 ± 6.7	74.9 ± 11.4	0.250	2.00
<i>Fleishmannia prasiifolia</i>	49.1 ± 27.8	85.3 ± 12.0	74.7 ± 7.7	66.4 ± 3.9	72.5 ± 15.8	0.255	2.04
<i>Setaria pampeana</i>	43.8 ± 0.8	60.0 ± 0.2	74.0 ± 4.9	65.6 ± 22.1	73.3 ± 23.9	0.310	2.48
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	39.8 ± 31.7	79.3 ± 4.5	65.3 ± 7.7	87.1 ± 8.5	85.7 ± 6.3	0.310	2.48
<i>Rhynchosia edulis</i>	29.5 ± 7.8x10 ⁻³	49.1 ± 1.6x10 ⁻³	81.6 ± 1x10 ⁻²	93.8 ± 2.1x10 ⁻⁴	94.1 ± 3.5x10 ⁻⁴	0.500	4.00
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	6.4 ± 1.4x10 ⁻⁴	9.6 ± 3.2x10 ⁻³	82.5 ± 3.7x10 ⁻³	46.3 ± 9.2x10 ⁻⁴	54.3 ± 6.4x10 ⁻⁴	0.750	6.00
<i>Acacia aroma</i>	12.2 ± 1.5	44.2 ± 1.4	42.3 ± 3.1	55.5 ± 7.5	62.4 ± 2.5	1.600	12.80
<i>Amphilophium carolinae</i>	10.3 ± 16.6	43.0 ± 6.5	21.3 ± 29.2	51.1 ± 6.1	58.3 ± 18.6	2.000	16.00

DISCUSIÓN

1. Efectos del glifosato en la supervivencia de las especies de plantas nativas no-blanco

En todas las especies nativas estudiadas se observaron efectos letales o subletales (fitotoxicidad y reducción del crecimiento) aun cuando se aplicaron dosis muy bajas de glifosato, equivalentes a dosis de deriva. Estos efectos serían aún mayores en los márgenes de los relictos de bosque donde la vegetación está expuesta a la dosis que habitualmente se usa en el campo y que llega a las plantas directamente por la aplicación directa. En consecuencia, estos resultados permiten concluir que la vegetación presente en los relictos de bosque nativo estaría siendo fuertemente afectada por la aplicación de glifosato en las tierras agrícolas adyacentes.

Los resultados obtenidos siguen la misma tendencia observada en trabajos previos realizados en otras regiones biogeográficas, en los cuales se describen efectos letales y subletales inmediatos de los agroquímicos en plantas no-blanco. Por ejemplo, reducción de la biomasa (Gove et al., 2007), supresión de la floración (Martin, 2011), reducción en la producción de semillas (Boutin et al, 2000; Fletcher et al, 1996; Kjaer et al., 2006; Schmitz et al., 2013) o fitotoxicidad (Schmitz et al., 2014). Además, estos efectos pueden acumularse y potenciarse en el largo plazo (Marshall y Breeze, 1999) considerando que las áreas naturales incluidas dentro de explotaciones agrícolas intensivas están sometidas a dosis bajas, pero frecuentes, de la deriva de herbicidas (Marshall, 2001). Por ejemplo, se ha registrado que la reducción en la abundancia de las poblaciones puede evidenciarse en el tercer año de tratamiento (Schmitz et al., 2014). Esta reducción de las poblaciones de las especies más sensibles puede ser aún más rápida y mayor cuando se suman otros factores de estrés (por ejemplo: herbívoros, condiciones meteorológicas extremas) que afectan la recuperación y la reproducción de las plantas (Carpenter y Boutin, 2010). De esta manera, las diferencias entre las especies en las respuestas a la deriva de herbicidas pueden modificar la composición de la comunidad vegetal (Marrs y Frost, 1997; Marrs et al., 1991b; Pitcairn et al., 1998, 2003; Pywell et al., 1996) a través de cambios en las interacciones biológicas, la fecundidad o la producción de semillas (Ball, 1992; Gove et al., 2007; Roberts y Neilson, 1981).

Sobre la base de estos antecedentes, es razonable pensar que los efectos negativos del glifosato observados en este grupo de especies de las comunidades del Chaco podrían incrementarse con el tiempo, dando lugar, por ejemplo, a cambios en la diversidad de las

comunidades naturales. En particular, considerando que, dentro de las 23 especies estudiadas, al menos en cuatro de ellas muere la totalidad de los individuos tratados con dosis de glifosato comparables a las que pueden llegar por deriva. En consecuencia, es razonable pensar que puedan estar sucediendo extinciones locales de poblaciones de varias especies nativas, tal como ha sido registrado en otros agroecosistemas (por ej, Schmitz et al., 2014).

2. *Efectos del glifosato en la selección de nuevos biotipos tolerantes al glifosato*

Entre las especies estudiadas se observó un gradiente de sensibilidad al glifosato en el cual algunas especies mueren con dosis muy bajas, pero otras sobreviven con efectos moderados o son tolerantes al herbicida. Este gradiente de sensibilidad fue corroborado con las dos metodologías diferentes aplicadas en este trabajo (reducción del crecimiento y síntomas de fitotoxicidad).

En la actualidad, el continuo e intensivo uso del glifosato para controlar malezas en soja transgénica y en lotes de barbecho químico destinados a la siembra directa proporciona alta presión de selección de malezas con dos consecuencias negativas. En primer lugar, aumenta la densidad de las especies tolerantes al glifosato, y en segundo lugar, favorece la evolución de poblaciones de plantas resistentes al glifosato (Neve et al., 2014; Owen y Powles, 2010; Pedersen et al. 2007; Powles, 2008; Powles et al., 1998).

Las malezas han ido adaptándose a los cambios impuestos por el hombre desde los inicios de la agricultura. La introducción del sistema de siembra directa en la Argentina es un buen ejemplo de cómo modificaciones introducidas en el ambiente se traducen en cambios en la comunidad de malezas. Como consecuencia, en pocos años se han producido cambios importantes en predios cultivados con soja, como por ejemplo un aumento en las poblaciones de malezas gramíneas anuales en detrimento de las latifoliadas y una notable disminución de la riqueza florística natural (Sabbatini et al., 2004).

La evolución de plantas resistentes al glifosato se está convirtiendo en un problema grave en agroecosistemas de todo el mundo en donde se utiliza glifosato como único herbicida (Duke y Powles, 2008; Vila-Aiub et al., 2008). La selección de biotipos tolerantes o resistentes requiere de varios años de prácticas particulares y repetidas. Por ejemplo, *Ipomoea purpurea* se ha mencionado como especie tolerante en los actuales sistemas de

producción de soja en Argentina (Vitta et al., 2004). Sin embargo, observamos GR₅₀ valores relativamente bajos para esta especie que evidencian las variaciones entre los biotipos de la población. Una explicación plausible de estos resultados sería que las plántulas fueron tratadas aquí durante las etapas iniciales de desarrollo (2-4 hojas) que podrían ser más sensibles y / o que las plántulas provienen de semillas recogidas en poblaciones más sensibles localizadas en bosques relictos. La sensibilidad al glifosato disminuye en diferentes especies a medida que progresa el desarrollo de las plantas (Marrs et al., 1991a; Shrestha et al., 2007).

Aunque existen numerosos trabajos que en otras regiones confirman el potencial de dosis muy bajas de glifosato para seleccionar fenotipos altamente resistentes en diversas malezas (Neve, 2007; Neve y Powles, 2005; Neve et al. 2014) nuestros resultados sugieren el desarrollo de biotipos tolerantes en muchas especies de plantas nativas del Bosque Chaqueño. Algunas de estas especies nativas pueden potencialmente convertirse en malezas de cultivos, considerando que algunos biotipos están continuamente expuestos a dosis bajas de glifosato. En consecuencia, la tolerancia de las malezas a los herbicidas aumenta porque usualmente se incrementa las dosis de tratamiento de campo. Esta estrategia repetida puede causar una gran presión para seleccionar biotipos y una resistencia posterior al herbicida (Christoffoleti et al., 2008).

3. *Síntesis y Aplicaciones*

Considerando los resultados aquí encontrados, es posible sugerir que el sistema de manejo de malezas asociado a la soja resistente al glifosato podría conducir, por un lado, a la reducción de la complejidad del paisaje, a través de la pérdida paulatina de biodiversidad en los agroecosistemas. Por el otro, se estarían seleccionando biotipos tolerantes al glifosato convirtiendo la dinámica de los agroecosistemas en un círculo muy problemático también para este modelo vigente de producción agrícola industrial.

Por lo tanto, resulta necesario y urgente discutir sobre el uso actual y la magnitud de los efectos del glifosato en organismos no blanco. Aunque las buenas prácticas agrícolas están reguladas, se necesitan mejores controles para el manejo aceptable de las malezas en los cultivos, prevenir la aparición de nuevos biotipos tolerantes y mantener la integridad de la biodiversidad en los entornos naturales adyacentes. Las técnicas y equipos de

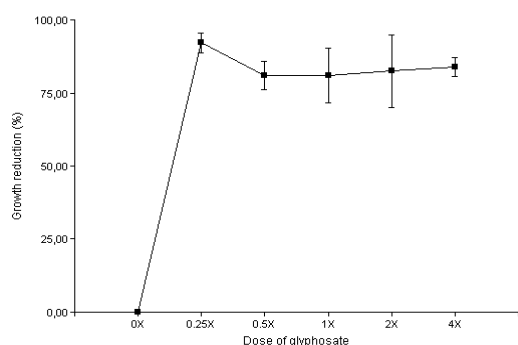
pulverización con herbicidas, las condiciones meteorológicas durante la aplicación, las capacidades del operador, las zonas de amortiguación, etc. tienen una importancia crucial en el nivel de deriva y la sobrepulverización de herbicidas en áreas no objetivo (Nuyttens et al., 2006 a,b). Las mediciones de la deriva en los márgenes de bosque han demostrado que hasta el 5% de la dosis aplicada puede depositarse hasta 2m en el interior del bosque, y el 1% de la dosis aplicada se puede medir hasta, al menos, 10m (Gove et al., 2004). Aunque algunos trabajos previos han demostrado que los impactos más graves de la deriva de herbicidas sobre los organismos no blanco están generalmente confinados a menos de 10m del punto de aplicación (Felsot et al., 1996; Gove et al., 2007; Marrs et al., 1989), se han observado efectos subletales sobre las plantas mucho más allá de esta distancia (Marrs et al., 1991b). Por lo tanto, a partir de los resultados de este trabajo y de los anteriores, se concluye sobre la necesidad y la urgencia de la adopción de “zonas buffer no pulverizadas” lo suficientemente amplias para proteger la biodiversidad de los relictos de bosques que están inmersos en matrices agrícolas y de este modo, también, evitar la selección de biotipos tolerantes o resistentes a este herbicida.

La comprensión y evaluación adecuadas de las consecuencias de la deriva de biocidas en áreas no blanco resultan aún más urgentes y necesarias si se considera el contexto de emergencia en el cual se encuentran los Bosques Chaqueños. En la Provincia de Córdoba (Argentina Central), los cambios en el uso de la tierra han reducido al bosque nativo a un conjunto de fragmentos de distinto tamaño inmersos en matrices de vegetación cultural. Sólo queda el 4.9% de los 12 millones de hectáreas de bosque que había en Córdoba a principios del siglo XX (Barchuk et al., 2010; Piquer-Rodríguez et al., 2015). En este contexto, es fundamental garantizar la conservación de todos los remanentes de bosque nativos porque desempeñan un papel importante en el paisaje agrícola, ya que proporcionan innumerables servicios ambientales, ecosistémicos y sociales como fuentes polinizadoras y polinización, formación de suelos y fertilidad, entre otros (IPBES, 2016). Además, los relictos de bosques nativos sostienen la diversidad biocultural y son el único hábitat remanente para numerosas especies amenazadas. En consecuencia, sería razonable aplicar el Principio de Precaución sobre el uso real del glifosato en los agroecosistemas y la expansión de la agroindustria sobre los bosques del Chaco. La incertidumbre científica sobre los efectos de la deriva de glifosato en organismos no blanco no pretende justificar que los agricultores no adopten prácticas adecuadas para garantizar la integridad de la biodiversidad en los agroecosistemas.

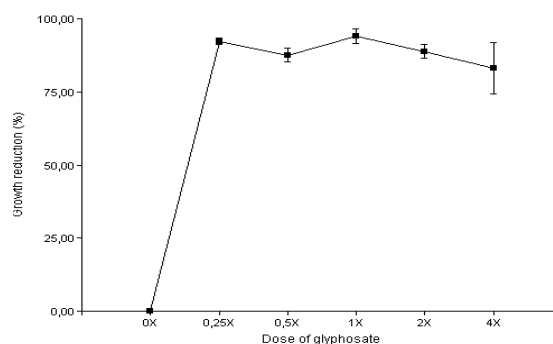
APÉNDICE I

Para cada una de las 23 especies nativas de plantas no cultivadas tratadas, se realizó una curva dosis-respuesta, en la que se representaron los porcentajes de reducción del crecimiento para cada especie pulverizada con dosis crecientes de glifosato ($X = 31 \text{ ha}^{-1}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada una de las dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Las observaciones se realizaron 21 días después del tratamiento. Las especies se ordenaron en disminución del valor de la sensibilidad al glifosato (según su RC_{50}).

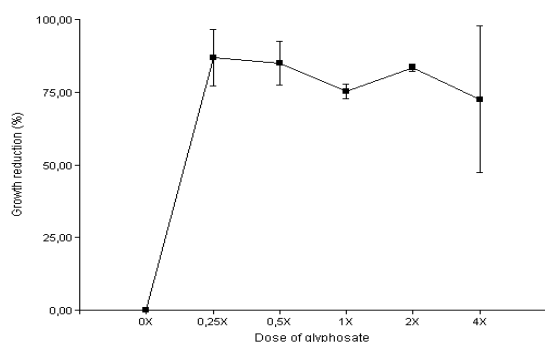
1. *Bidens subalternans*



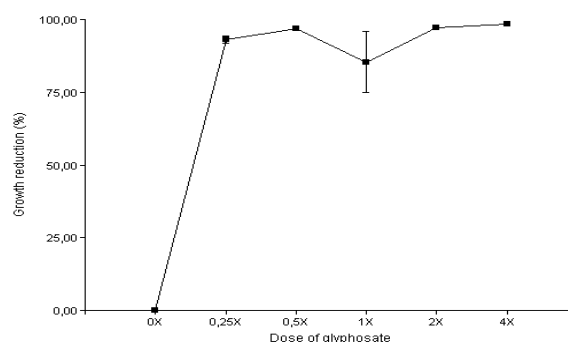
2. *Solanum argentinum*



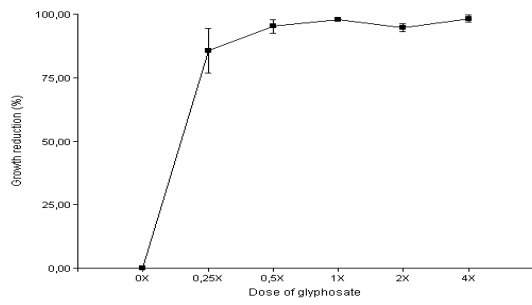
3. *Chromolaena hookeriana*



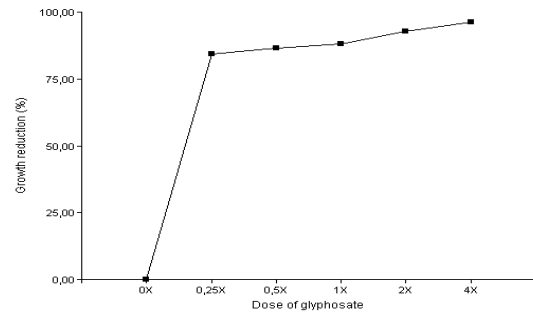
4. *Ipomoea purpurea*



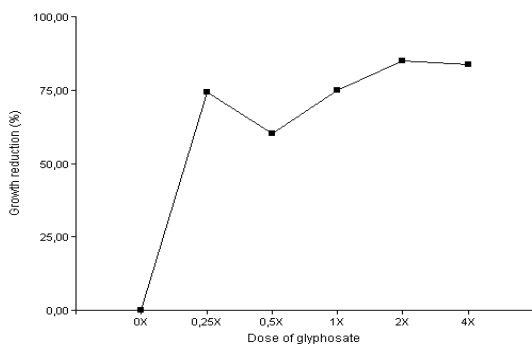
5. *Rivina humilis*



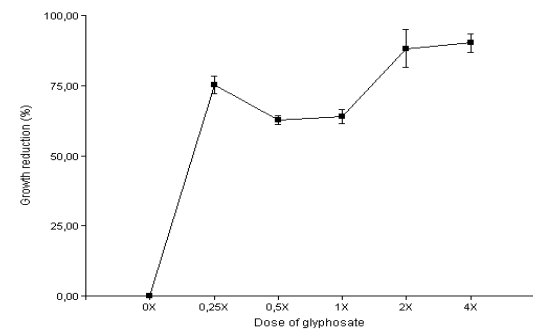
6. *Baccharis glutinosa*



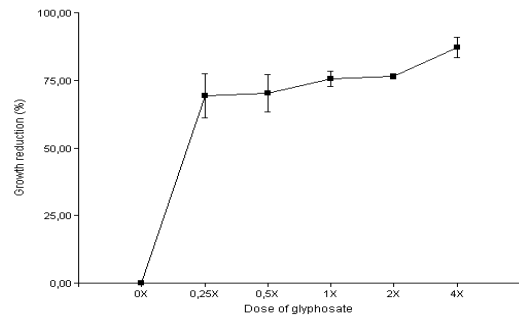
7. *Passiflora morifolia*



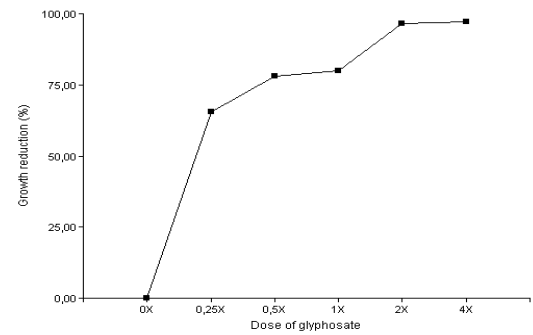
8. *Amelichloa brachychaeta*



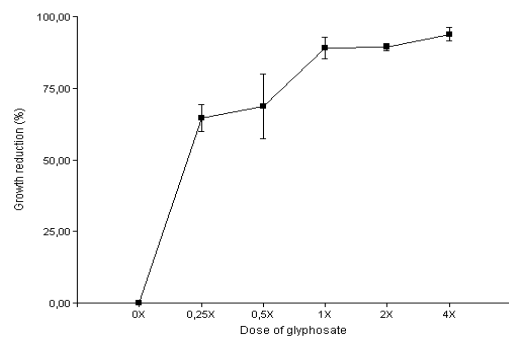
9. *Piptochaetium* sp.



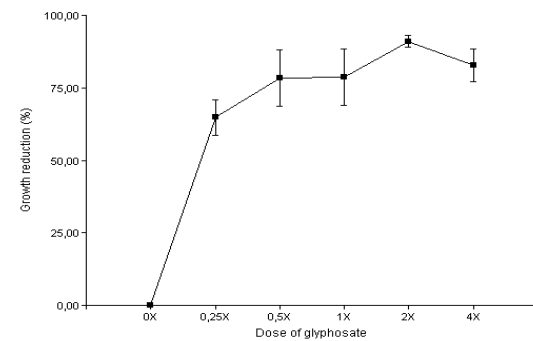
10. *Ipomoea nil*



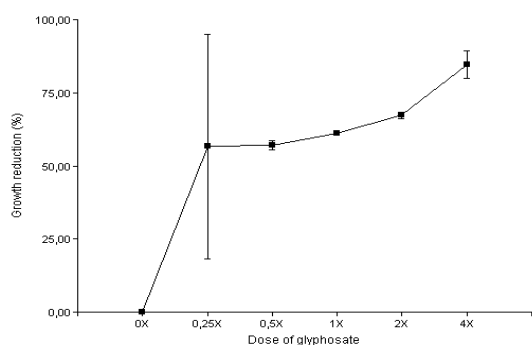
11. *Iresine diffusa*



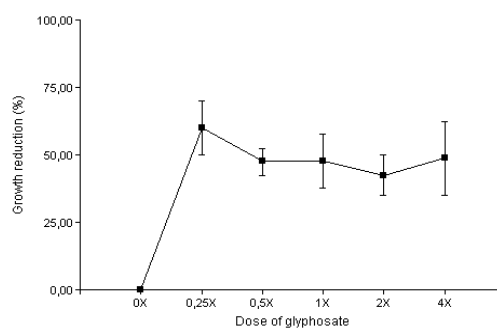
12. *Solanum palinacanthum*



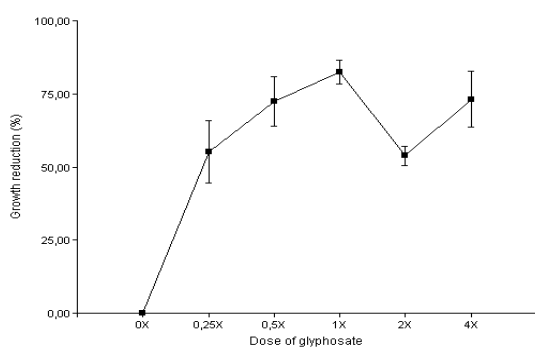
13. *Sida spinosa*



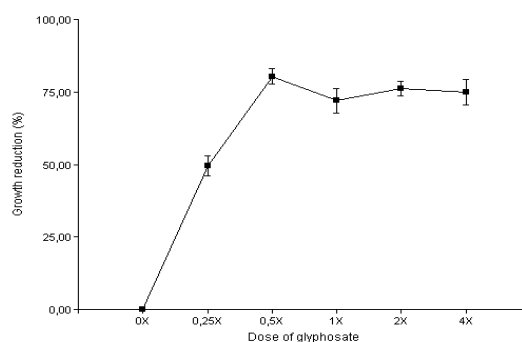
14. *Bouteloua curtipendula*



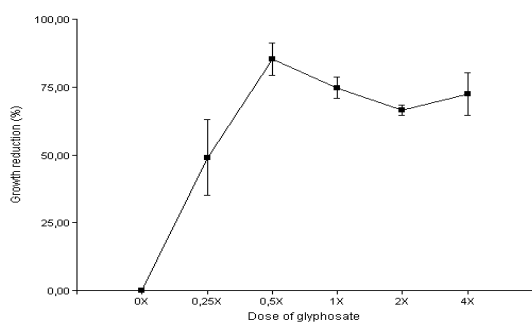
15. *Jarava ichu*



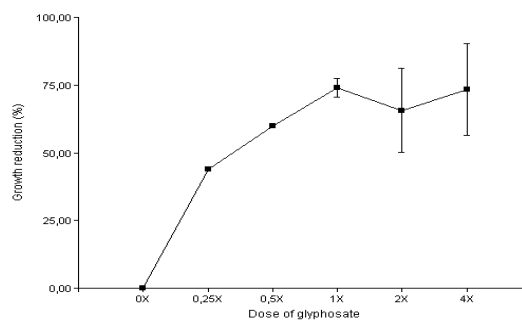
16. *Celtis ehrenbergiana*



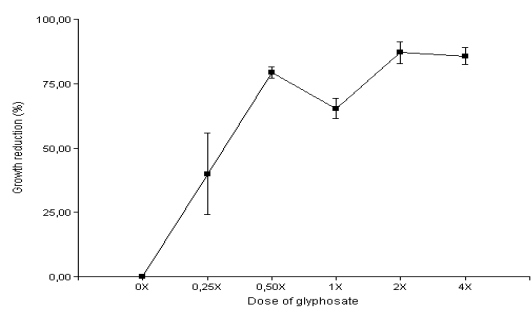
17. *Fleischmannia prasiifolia*



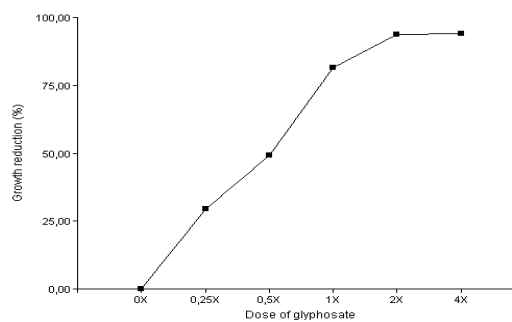
18. *Setaria pampeana*



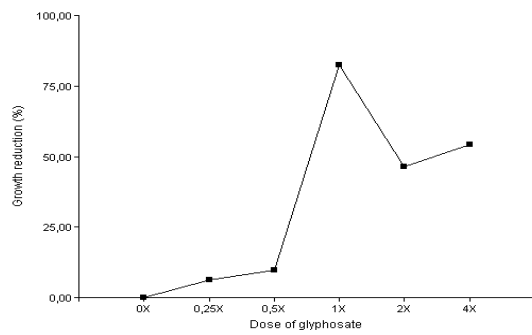
19. *Solanum pseudocapsicum*



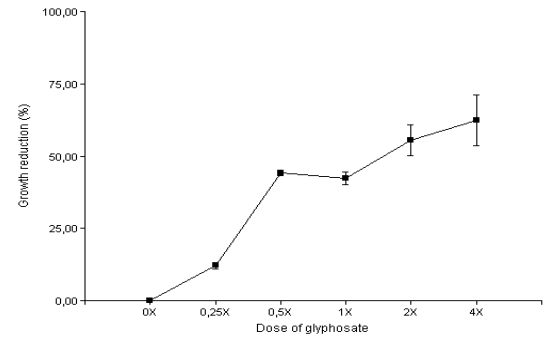
20. *Rhynchosia edulis*



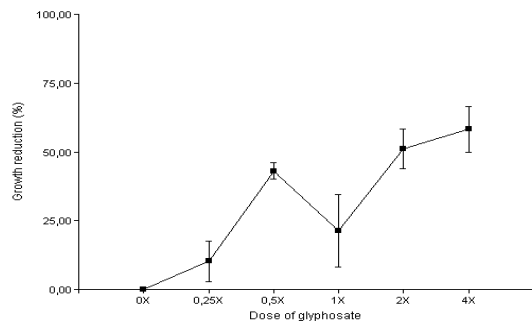
21. *Cardiospermum halicacabum*



22. *Acacia aroma*



23. *Amphilophium carolinae*



CAPÍTULO II

DIVERSIDAD Y SUPERVIVENCIA DE PLANTAS NATIVAS EN RELACIÓN AL GRADO DE EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO EN FRAGMENTOS DE BOSQUE CHAQUEÑO

INTRODUCCIÓN

Los paisajes agrícolas actuales están formados por mosaicos con diferentes usos de la tierra; es decir, se intercalan fragmentos de ambientes naturales y seminaturales, con campos de cultivo (Egan et al., 2014). Estos fragmentos de bosque son reservorio de gran parte de la diversidad vegetal en muchos paisajes agrícolas (Boutin y Jobin, 1998; Egan y Mortensen, 2012; Liira et al, 2008; Phalan et al, 2011). Esta diversidad de plantas en los ambientes naturales es muy importante ya que provee refugio a la fauna silvestre, recursos alimenticios, y, además, es esencial para mantener la diversidad de las comunidades de insectos benéficos que contribuyen a la polinización y al control biológico de plagas de los cultivos (IPBES, 2016; Isaacs et al., 2009).

Los herbicidas son utilizados habitualmente para el control primario de malezas en la mayoría de los sistemas modernos de cultivo (Egan et al., 2014), y, dada la naturaleza sintética de los mismos, su concentración, la forma de aplicación y sus interacciones con el medio, existe una posibilidad cierta que estos productos puedan presentar interacciones más o menos complejas con el ambiente, dependiendo del tipo de moléculas presentes en su composición (Pengue, 2003). Además de los impactos negativos en el ambiente (aparición de tolerancia, contaminación, deriva, destrucción de hábitats, pérdida de biodiversidad, etc.), los agroquímicos pueden tener impactos sobre la salud humana, derivados de accidentes ocasionados durante la aplicación, por la exposición de los consumidores a través de los alimentos (Evia y Gudynas, 2000) o por la exposición prolongada a bajas dosis. Respecto del glifosato, entre las principales interacciones directas con el medio ambiente podemos encontrar efectos vinculados con la evolución de resistencia o tolerancia en plantas del

ecosistema, interacciones no deseadas con otros productos, impactos ambientales de los coadyuvantes, etc. (Pengue, 2003).

El glifosato [N- (fosfonometil) glicina) es actualmente el herbicida más utilizado en el mundo y su uso en la agricultura ha aumentado enormemente desde la introducción de los cultivos resistentes al glifosato (Duke y Powles, 2008). En los campos de cultivo, se pulveriza sobre el follaje de las plantas. Sin embargo, una porción del herbicida puede ser depositada directamente en la superficie del suelo o ser transportada por el viento hacia las plantas vecinas, las cuales quedan expuestas continuamente al glifosato (Gomes et al., 2014). Otra fuente importante de exposición a este herbicida es la exudación de las raíces de las plantas pulverizadas (Coupland y Caseley, 1979) y su liberación desde las plantas muertas (Neumann et al., 2006). Estudios recientes sugieren que existe riesgo de toxicidad del glifosato en plantas no-blanco debido a la transferencia de glifosato desde la rizósfera (Tesfamariam et al., 2009). Una vez en el suelo, el glifosato es adsorbido por partículas del suelo, y puede ser degradado por microbios o puede migrar a través de los poros del suelo (Gomes et al., 2014). Sin embargo, algunas prácticas agrícolas, tales como modificaciones de los aportes de fósforo pueden volver a solubilizar el glifosato en los suelos, haciéndolo disponible para la lixiviación (Borggaard y Gimsing, 2008) y la disposición en la rizósfera para las plantas no-blanco (Gomes et al., 2014).

Probablemente, el más común es el movimiento de herbicidas como deriva de partículas que se transportan por el viento desde un pulverizador terrestre o aéreo (De Jong et al., 2008; Marrs et al., 1989; Wang, 2001). De esta manera, los herbicidas también pueden ser transportados fuera de los campos de cultivo en el flujo de agua subterránea (Pätzold et al., 2007; Reichenberger et al., 2007; Wauchope et al., 2002). Además, pueden moverse hacia la atmósfera unidos a las partículas del suelo y el polvo resultante puede ser depositado durante las precipitaciones en concentraciones suficientemente altas como para dañar las plantas (Hill et al., 2002, Tudurí et al., 2006). Dada esta variedad de mecanismos de movilización, es probable que las plantas nativas que crecen en los remanentes de ambientes naturales dentro de los agroecosistemas, estén expuestas de forma continua a dosis bajas de los herbicidas utilizados en la matriz de cultivo (Egan et al., 2014; Gove et al., 2007). Se ha demostrado que el glifosato afecta a mecanismos fisiológicos vitales de las plantas, tales como la fotosíntesis, el metabolismo del carbono, la nutrición mineral, eventos oxidativos y puede perturbar las interacciones planta-microorganismos (Kielak et al, 2011; Kremer y Means, 2009; Zobiolo et al., 2012).

Debido la importancia de los herbicidas en la agricultura moderna, es fundamental la comprensión científica de la respuesta de las plantas no-blanco expuestas a dosis bajas y continuas de herbicidas (Boutin et al., 2012).

Existen tres factores principales que deben ser considerados para la evaluación de los impactos de la deriva de los agrotóxicos: (1) la evaluación del grado de exposición al herbicida; (2) la toxicología del herbicida en las especies en el laboratorio; y (3) los efectos toxicológicos en condiciones naturales de campo (Marrs y Frost, 1997).

Para la evaluación del grado de exposición al herbicida los estudios demuestran que la captura de deriva por la vegetación se produce a través de dos vías principales: (1) de sedimentación, donde las gotas se depositan simplemente por gravedad y (2) el impacto inercial, donde las gotitas llegan a la superficie de las plantas por las corrientes de aire (Marrs y Frost, 1997). La cantidad exacta de herbicida depositada en una situación dada depende de una compleja interacción entre: (1) la velocidad del viento; (2) el espectro de tamaño de gota de la pulverización; (3) la estructura de la planta (teniendo en cuenta su forma, tamaño, orientación y vellosidad), y (4) el efecto de la estructura de la vegetación circundante (Marrs et al, 1991a; Williams et al, 1987). Por lo tanto, es muy difícil obtener estimaciones exactas de la deriva de herbicidas interceptada por diferentes especies de plantas, ya que realizar, por ejemplo, análisis químicos de herbicidas es difícil debido a la rápida absorción por las plantas, seguida por el metabolismo en compuestos secundarios o en fotólisis (Roberts, 1982).

En relación al segundo punto, evaluación de la toxicidad en el laboratorio, la principal ventaja es que la aplicación del herbicida puede hacerse bajo condiciones controladas y repetibles, usando con precisión la máquina pulverizadora o una cámara de micro-gota (Breeze et al., 1992). La mayoría de las pruebas de laboratorio consisten esencialmente en la elaboración de curvas de dosis-respuesta. Estas pruebas son, por lo general, de corto plazo, donde se evalúa el daño en la emergencia de las plántulas a partir de semillas (aplicaciones de compuestos químicos al suelo), los síntomas de daño que se registran visualmente o la reducción del crecimiento (Marrs y Frost, 1997).

Finalmente, en la evaluación de la toxicidad en el campo, los experimentos permiten evaluar en organismos de prueba, los impactos de la exposición a herbicidas en condiciones naturales. En este caso, es más difícil controlar la aplicación de herbicidas, ya que puede haber diferencias sutiles inducidas en cada evento de pulverización debido a las diferencias inevitables en el microclima (Marrs y Frost, 1997). La evaluación a campo de los riesgos de

los herbicidas tiene como finalidad proteger a los organismos no-blanco de los efectos negativos de los plaguicidas (Comisión Europea, 2002). La pulverización directa de la vegetación no-blanco ocurre desde las boquillas de pulverización que están montadas en el brazo rociador de las máquinas pulverizadoras que se utilizan actualmente para aplicar los agroquímicos en los cultivos. Los conos de pulverización de dos boquillas se superponen a fin de asegurar una tasa de plena aplicación al 100% en el campo. La última boquilla del brazo rociador se coloca entonces por encima del borde campo, y, como resultado, parte del margen del campo adyacente (dependiendo del cultivo y la altura correspondiente del brazo de pulverización) es pulverizada. Esta situación se ve agravada por el hecho de que los márgenes de los campos tienen, a menudo, sólo unos pocos metros (0,5 – 1,2 m) de ancho, facilitando, también, el ingreso de los pesticidas por deriva de la máquina pulverizadora (Schmitz et al, 2013). Para estudiar los impactos de la deriva de pulverizadores terrestres convencionales, por lo general, se utilizan plantas de cultivo (Al-Khatib et al., 1993; Ardivissson, 1985; Byass y Lake, 1977; Holt et al, 1976; Nordby y Skuterud, 1975), pero más recientemente se han comenzado a utilizar especies nativas (Marrs et al., 1989, 1991a; Schmitz et al, 2014).

Los estudios de monitoreo a gran escala realizados durante las últimas décadas, han detectado importantes reducciones en la diversidad de plantas de los márgenes de los campos cultivados (Bunce et al., 1994; Kleijn y Verbeek, 2000; Roß-Nickoll et al., 2004). Uno de los factores que contribuye a la reducción de la diversidad de plantas en estos ambientes es la deriva de herbicidas utilizados en los cultivos (Andreasen y Streibig, 2011; De Snoo, 1999; Kleijn y Snoeijs, 1997; Marrs y Frost, 1997). Tal como se describió más arriba, esto se debe a que la aplicación de herbicidas, se lleva a cabo hasta el borde del cultivo y, en consecuencia, la vegetación adyacente al cultivo es directamente pulverizada, y, además, queda expuesta a la deriva resultante (Schmitz et al., 2014). Bajo condiciones ideales de pulverización y métodos de aplicación adecuados, la deriva de la pulverización total (es decir, la porción de la pulverización que se deposita fuera del área tratada) es muy baja (1-2% del volumen aplicado), pero los vientos fuertes y los malos procedimientos de aplicación, pueden dar lugar a la deriva del 37% de la pulverización total (Nordby y Skuterud, 1975). Sin embargo, es probable que estos valores estén subestimados, ya que no tienen en cuenta la fracción más fina de gotitas que permanece en el aire durante más tiempo (Gove et al., 2007). Las mediciones de la deriva en márgenes de bosque han demostrado que hasta el 5% de la dosis aplicada se deposita a 2m hacia el interior del bosque, y un 1% de la dosis aplicada se puede medir, al menos, hasta 10m (Gove, 2004; Gove et al., 2004). Si bien estas dosis parecen

bajas, la dispersión de pesticidas en concentraciones equivalentes ha demostrado que causan mortalidad y supresión del crecimiento de las plantas no-blanco que se encuentran en las comunidades vegetales semi-naturales en los límites de los campos cultivados (Breeze et al., 1992; Dixon et al., 2002; Marrs et al., 1989, 1993). Sin embargo, muy pocos estudios se han realizado explorando las respuestas de las plantas contemplando condiciones reales de campo, y muy pocos autores han investigado los efectos de las exposiciones a herbicidas en plantas no-blanco utilizando experimentos de campo *in situ* (por ejemplo, Kleijn y Snoeijs, 1997).

A pesar de que los daños producidos por la deriva de las pulverizaciones son difíciles de evaluar, sigue siendo esencial tener más conocimientos sobre los posibles efectos perjudiciales de los herbicidas en la flora nativa. A medida que la conservación de la biodiversidad sea cada vez más importante, los poderes públicos deberán estar en condiciones de aplicar políticas eficientes para proteger los organismos no-blanco. Dado que el uso de herbicidas es importante para la protección de cultivos y es poco probable que cese, el objetivo, por lo tanto, debe ser, desarrollar nuevas políticas que permitan tanto el control de malezas en áreas tratadas como la protección de las plantas no-blanco en las zonas adyacentes. Es decir, desarrollar políticas para el establecimiento de “zonas buffer” adecuadas. A fin de poder implementar políticas de este tipo, es necesario conocer cuál es la distancia requerida para una protección adecuada de la vegetación (Marrs y Frost, 1997). Atendiendo a esta problemática, el objetivo principal de este capítulo fue determinar experimentalmente en las condiciones naturales del agroecosistema estudiado, los efectos de las pulverizaciones de glifosato en plántulas de dos especies de plantas vasculares nativas (una sensible, *Bidens subalternans* y otra tolerante, *Amphilophium carolinae*, al glifosato), situadas a diferentes distancias del borde de los fragmentos de bosque.

Hipótesis

Los efectos de la exposición a una pulverización con glifosato en la matriz cultivada, en plántulas de dos especies nativas ubicadas en fragmentos de bosque inmersos en agroecosistemas, serán mayores en la especie sensible al glifosato que en la especie tolerante al herbicida, y decrecerán a medida que aumente la distancia al borde de los fragmentos de bosque donde las plántulas hayan sido expuestas a la pulverización.

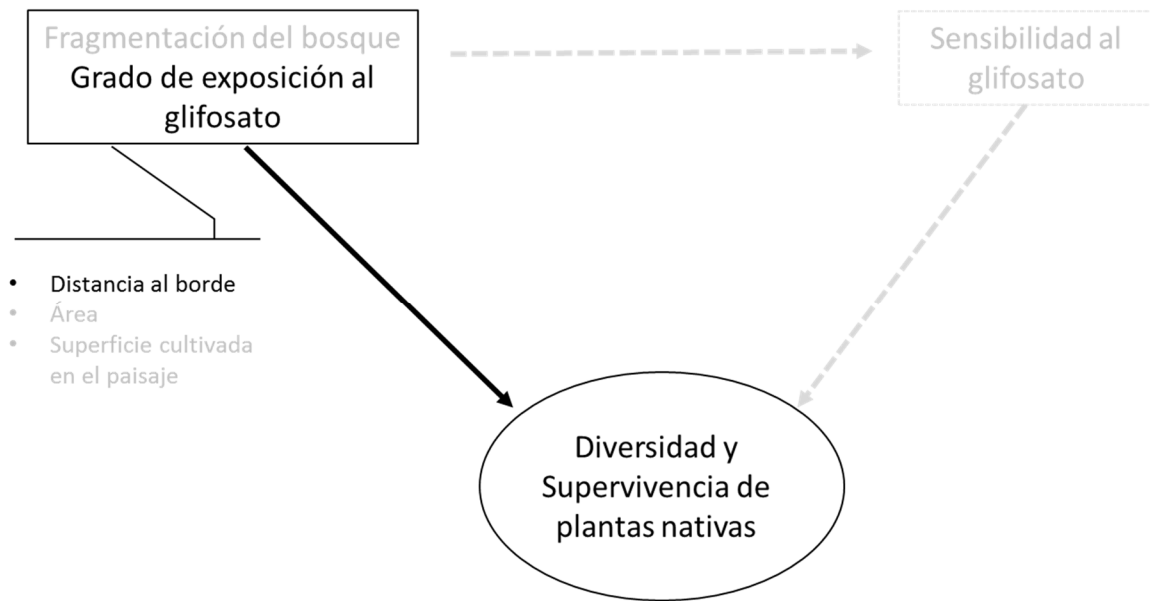


Figura 1. Modelo conceptual que describe las relaciones esperadas entre la diversidad y la supervivencia de las plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados, el grado de fragmentación del bosque nativo, el grado de exposición al glifosato, y la sensibilidad de las especies nativas al herbicida. Se resalta el factor y la variable que serán abordados en el Capítulo II.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en dos etapas, una de campo y otra en laboratorio, bajo condiciones controladas.

1. **ETAPA EN LABORATORIO:** Evaluación de sensibilidad al glifosato.

1.1 *Especies estudiadas*

De acuerdo al gradiente de sensibilidad registrado para las 23 especies de plantas nativas estudiadas en el Capítulo I, se seleccionaron dos especies representantes de los extremos del mencionado gradiente de sensibilidad. Una de ellas con alta sensibilidad al glifosato, *Bidens subalternans*, y otra con baja sensibilidad a este herbicida, *Amphilophium carolinae*.

Se colectaron semillas de 10 individuos de cada especie en los fragmentos de Bosque Chaqueño estudiados (ver sección Materiales y Métodos Generales), y se sembraron en germinadores de plástico, con una mezcla 2:1 de tierra y arena estériles. Los germinadores se mantuvieron bajo condiciones homogéneas de luz, temperatura y humedad en cámaras de germinación (16h de luz y 8h de oscuridad, 25°C y 60% de humedad), regándolas periódicamente. Una vez germinadas las semillas, se dejó sólo una plántula en cada cubículo de los germinadores.

1.2 *Aplicación de glifosato*

Cuando las plántulas poseían entre 2 y 4 hojas definitivas (aproximadamente 5 semanas posteriores de haber sido sembradas) fueron asignadas, aleatoriamente, a seis tratamientos independientes, con concentraciones crecientes de glifosato 70% (Credit Full, Nufarm, sal potásica de glifosato 66,2% p/v). En total fueron tratadas 144 plántulas, 72 plántulas correspondientes a cada una de las 2 especies, asignando 12 plántulas para cada uno de los tratamientos con glifosato: 0,25X; 0,5X; 1X; 2X; 4X y un control (sin aplicación de herbicida, 0X). Se consideró como X la dosis media de aplicación en el campo (3 l ha⁻¹).

Las plántulas fueron trasladadas desde el invernadero hasta una parcela especial aislada, en donde se realizaron las pulverizaciones de glifosato. El herbicida fue aplicado tal como se describió en la sección Materiales y Métodos del Capítulo I. Las plántulas fueron trasladadas nuevamente al invernadero, 24h posteriores al tratamiento con el herbicida.

1.3 Valoración de los efectos del glifosato

Se realizaron valoraciones cualitativa y cuantitativa de la respuesta de las plántulas tratadas a las dosis crecientes del herbicida, tal como se describió en la sección Materiales y Métodos del Capítulo I.

1.4 Análisis de los datos

Para comparar la fitotoxicidad y la reducción del crecimiento de las plántulas tratadas con diferentes dosis de glifosato, se realizaron análisis de la varianza con el programa estadístico R (<http://www.R-project.org>), tomando como factor independiente las dosis de glifosato empleadas en cada tratamiento (0X; 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X). En el caso de la valoración cualitativa, la variable de respuesta considerada fue el porcentaje de fitotoxicidad observado en cada especie, con cada dosis de glifosato. En el caso de la valoración cuantitativa, la variable de respuesta considerada fue la reducción del crecimiento de las plántulas de cada especie, con cada dosis de glifosato. Las comparaciones *a posteriori* fueron realizadas utilizando el test de Tukey para comparar la diferencia de medias.

2. ETAPA EN EL CAMPO

2.1 Diseño del experimento

Se pusieron a germinar semillas de las dos especies estudiadas (una con mayor y otra con menor sensibilidad al glifosato, *Bidens subalternans* y *Amphilophium carolinae*, respectivamente) en macetas de plástico con una mezcla 2:1 de tierra y arena estériles y se mantuvieron bajo condiciones homogéneas de luz, temperatura y humedad en el invernadero (16h de luz y 8h de oscuridad, 25°C y 60% de humedad), regándolas periódicamente.

Para este experimento se seleccionaron tres fragmentos de destino de diferente tamaño, cuyos bordes colindan con una matriz de cultivo (en este caso, soja transgénica) en la Estancia Santo Domingo (Río Ceballos, Córdoba, Argentina): FRAGMENTO 1 (**FR1**): 1,03ha; FRAGMENTO 2 (**FR2**): 5,35ha; y FRAGMENTO 3 (**FR3**): 19,81ha.



Luego de transcurridas 5 semanas de crecimiento de las plántulas, el día anterior a la pulverización del herbicida sobre el cultivo, se trasladaron las macetas a los fragmentos de destino. Se colocaron 12 macetas de cada una de las dos especies, en los siguientes puntos:

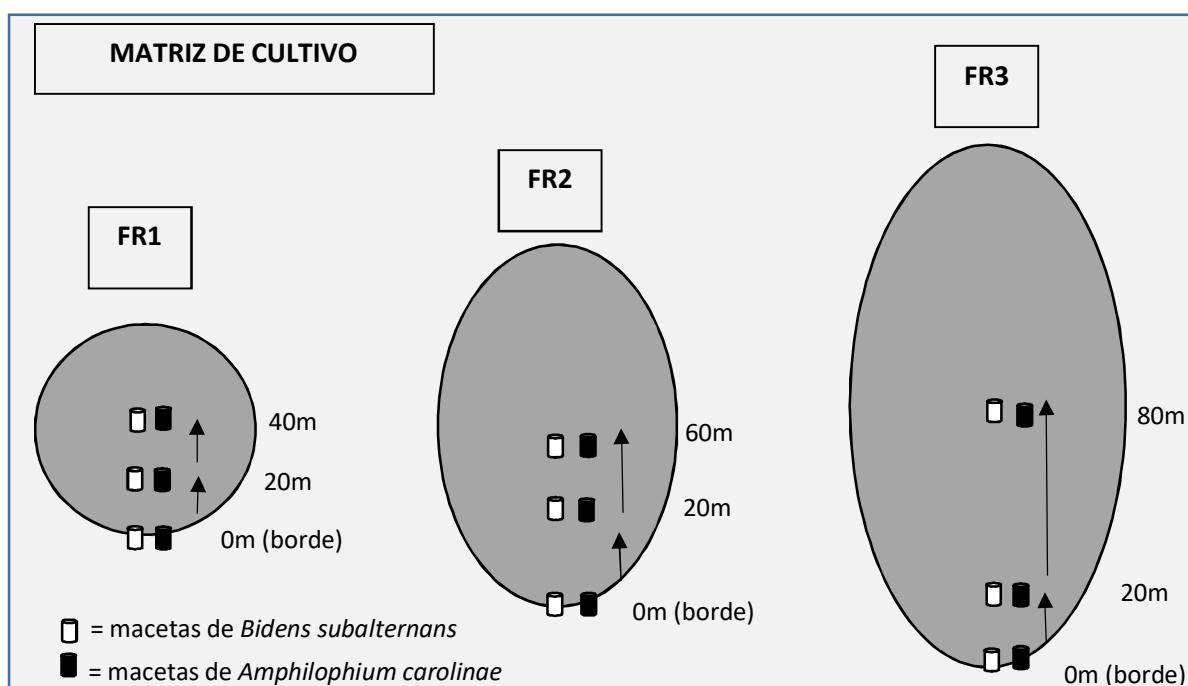
FR 1: en el borde propiamente dicho, a 20 y 40m del borde hacia el centro.

FR 2: en el borde propiamente dicho, a 20 y 60m del borde hacia el centro.

FR 3: en el borde propiamente dicho, a 20 y 80m del borde hacia el centro.

Este traslado se llevó a cabo en los meses de enero y marzo de 2014. En este último caso, se trasladaron plántulas de la misma edad, también un día previo a la pulverización del mismo cultivo de soja, con el fin de tener réplicas de las especies estudiadas expuestas a las condiciones ambientales del agroecosistema, en dos situaciones temporales diferentes, pero en el mismo ciclo de cultivo.

Las macetas fueron colocadas en un recipiente de telgopor de inferior altura al inicio de la parte aérea del ejemplar, de modo que la parte aérea de la planta quedase expuesta a la pulverización y/o volatilización proveniente de la máquina pulverizadora. Se eligió colocar los ejemplares en este tipo de recipientes ya que en los mismos era posible depositar un determinado volumen de agua para que las plántulas no sufran stress hídrico durante las horas que estuviesen en el campo, y reducir las posibilidades de ser consumidas por herbívoros que transiten la zona. En ambos casos, el herbicida se aplicó con una pulverizadora agrícola, utilizando Roundup UltraMax (1,5 kg/ ha aplicado con pastillas de abanico plano XR, en un volumen de 60 l/ha), a razón de 4l/ha. Pasadas 24 horas de la pulverización, las plántulas fueron trasladadas en sus respectivas macetas al invernadero, donde se las mantuvo durante 21 días más, para realizar los respectivos análisis cuali- y cuantitativos.



2.2 Valoración de los efectos del glifosato

2.2.1 Valoración cualitativa

Luego de 21 días de la aplicación del herbicida, se realizaron observaciones en las plántulas a fin de determinar el nivel de afección de acuerdo a la manifestación de síntomas

de fitotoxicidad: clorosis, daño foliar, marchitez y/o muerte, tal como se describe en la sección Materiales y Métodos del Capítulo I.

2.2.2 Valoración cuantitativa

Después de 21 días de la aplicación, se procedió a valorar de forma cuantitativa la respuesta a dosis crecientes del herbicida mediante la medición del peso seco de las plántulas tratadas, el cálculo de su correspondiente reducción del crecimiento y RC_{50} , y la construcción para cada especie, de su curva de dosis-respuesta, tal como se describe en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo I.

2.3 Análisis de los datos

Para comparar la fitotoxicidad y la reducción del crecimiento de las plántulas colocadas a distancias crecientes del borde hacia el interior de los fragmentos de bosque, se realizaron análisis de la varianza con el programa estadístico R (<http://www.R-project.org>), tomando como factor independiente la distancia al borde en que fue colocada cada plántula en los fragmentos de destino (0, 20, 40, 60 y 80m). En el caso de la valoración cualitativa, la variable de respuesta considerada fue el porcentaje de fitotoxicidad observado en cada especie, en cada distancia hacia el interior en que se encontraban colocadas las plántulas. En el caso de la valoración cuantitativa, la variable de respuesta considerada fue la reducción del crecimiento de las plántulas de cada especie, en cada distancia hacia el interior en que se encontraban colocadas las plántulas. Las comparaciones *a posteriori* fueron realizadas utilizando el test de Tukey para comparar la diferencia de medias.

RESULTADOS

1. Valoración cualitativa

1.1 *Bidens subalternans*

1.1.1 Laboratorio: Todas las dosis empleadas causaron fitotoxicidad sobre las plántulas, manifestándose de forma gradual, mayores síntomas a medida que la dosis de glifosato fue mayor. Los síntomas más evidentes fueron la clorosis (manchas amarillas sobre las hojas), necrosis de tejidos, marchitez y muerte. Cuando se trató a las plántulas de *Bidens subalternans* con la dosis que habitualmente se utiliza en el campo (1X), las mismas presentaron un 100% de mortalidad. Cabe destacar, además, que cuando se trató a estas plántulas con $\frac{1}{4}$ de la dosis que se usa en el campo, presentaron un 90% de fitotoxicidad, mostrando daños severos (necrosis y marchitez) (Figura 2.1a).

1.1.2 Campo: Todas las plántulas colocadas en los fragmentos de bosque durante la pulverización en la matriz de cultivo presentaron síntomas de fitotoxicidad. Incluso aquellas colocadas a 80m hacia el interior de los fragmentos, las cuales presentaron un 15% de fitotoxicidad, manifestando clorosis y daño foliar. Estos mismos efectos del glifosato en términos de fitotoxicidad, fueron alcanzados en el laboratorio cuando se trató a las plántulas con una dosis de 0,10X aproximadamente. La fitotoxicidad se fue incrementando significativamente ($p < 0,0001$) a medida que las plántulas fueron ubicadas más cerca del borde (0m), sufriendo, en este caso, hasta un 95% de fitotoxicidad (Figura 2.1b). Estos efectos fitotóxicos fueron observados en el laboratorio cuando las plántulas fueron pulverizadas con 0,5X, es decir, la mitad de la dosis de glifosato que habitualmente se utiliza en el cultivo (confrontar Figuras 2.1a y 2.1b). De esta manera, según los daños fitotóxicos observados en esta especie, al menos hasta 80m hacia el interior de los fragmentos estaría llegando una dosis de 0,10X de glifosato, la cual puede provocar importantes lesiones en los tejidos de las plantas, más aún si se trata de una especie sensible como en este caso.

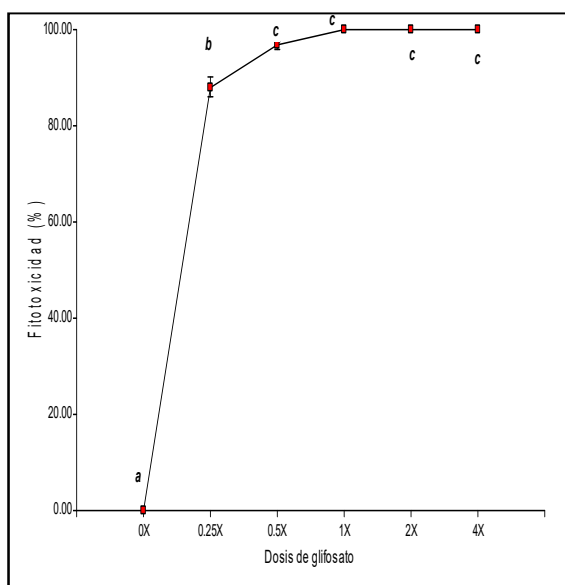


Figura 2.1a. Valoración cualitativa de los efectos del glifosato en el laboratorio: Fitotoxicidad en plántulas de *Bidens subalternans* pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (X = 3 l/ha) luego de cinco semanas post-emergencia. Los síntomas de fitotoxicidad fueron registrados 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre las plántulas. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

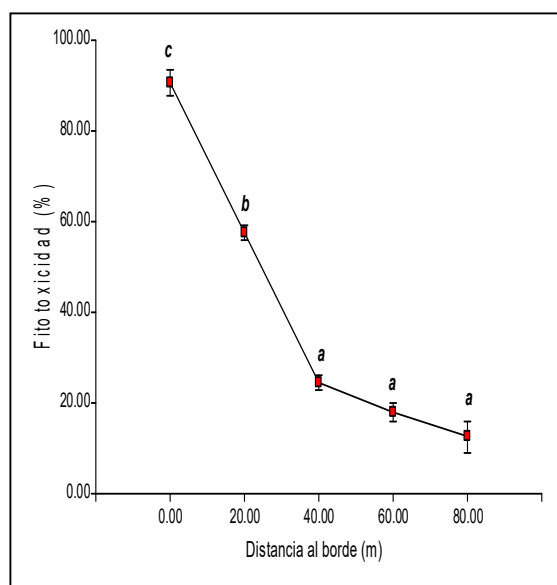


Figura 2.1b. Valoración cualitativa de los efectos del glifosato en el campo: Fitotoxicidad en plántulas de *Bidens subalternans* colocadas a distancias crecientes del borde hacia el interior de fragmentos de bosque (0, 20, 40, 60 y 80m) durante un evento de pulverización en la matriz de cultivo. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

1.2 *Amphilophium carolinae*

1.2.1 Laboratorio: Todas las dosis empleadas causaron fitotoxicidad sobre las plántulas, manifestándose de forma gradual, mayores síntomas a medida que la dosis de glifosato fue mayor. Los síntomas más evidentes fueron la clorosis (manchas amarillas sobre las hojas), necrosis de tejidos, marchitez y muerte. Las plántulas de *A. carolinae*, cuando fueron tratadas con glifosato en el laboratorio con las dosis más bajas (0,25X y 0,5X), las cuales podrían encontrarse en la deriva de pulverización de glifosato, si bien no presentaron daños severos o muerte, si se observó clorosis y daño leve de tejidos. Al tratar las plántulas con la dosis que habitualmente se utiliza en el campo (1X), presentaron un 30% de fitotoxicidad, exhibiendo también a esta dosis clorosis y daño foliar, mientras que este porcentaje se elevó significativamente a 65% cuando se las pulverizó con la dosis más elevada de glifosato (4X), observándose en las plántulas tratadas marcada clorosis, necrosis de tejidos, y marchitez (Figura 2.2a).

1.2.2 Campo: Cuando se trasladaron plántulas de esta especie a los fragmentos de bosque, mostraron un gradiente de afección según se incrementaba la cercanía al borde del fragmento (Figura 2.2b). En *A. carolinae* la respuesta de las plántulas a la pulverización realizada sobre el cultivo fue más gradual que en *B. subalternans*, pero de igual modo se observaron efectos fitotóxicos, incluso hasta los 80m hacia el interior de los fragmentos, aunque en un porcentaje muy bajo (1,5%). Estos daños fueron observados en el laboratorio, al tratar a las plántulas de esta especie con dosis subletales equivalentes a 0,10X de glifosato. En el borde propiamente dicho (0m), las plántulas sufrieron un 20% de daño en sus tejidos, lo mismo que se observó en las plántulas cuando se las pulverizó en el laboratorio con la mitad de la dosis que habitualmente se utiliza en el campo (0,5X). Es a partir de estos resultados que podemos indicar que en el borde de los fragmentos estaría llegando una dosis de glifosato equivalente a 0,50X, y al menos hasta 80m hacia el interior de los relictos de bosque estarían llegando dosis subletales de este herbicida, que podrían equivaler a las dosis encontradas en la deriva de la pulverización (0,10X-0,50X).

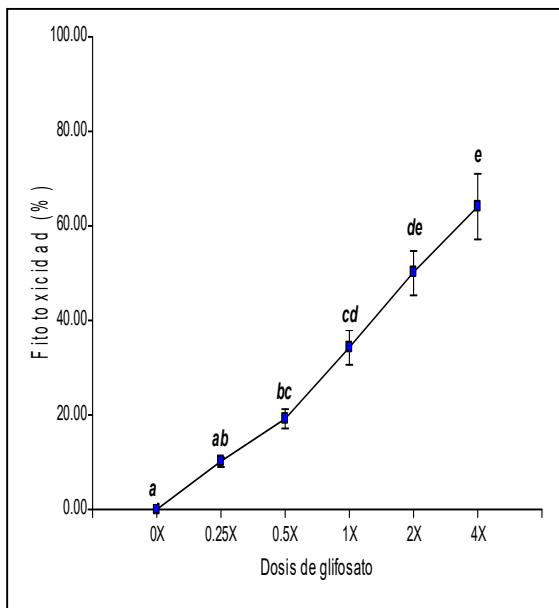


Figura 2.2a. Valoración cualitativa de los efectos del glifosato en el laboratorio: Fitotoxicidad en plántulas de *Amphilophium carolinae* pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (X = 3 l/ha), luego de cinco semanas post-emergencia. Los síntomas de fitotoxicidad fueron registrados 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre las plántulas. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

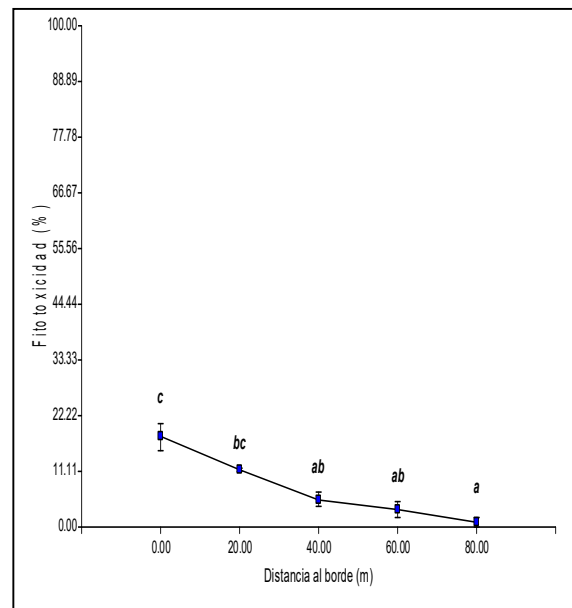


Figura 2.2b. Valoración cualitativa de los efectos del glifosato en el campo: Fitotoxicidad en plántulas de *Amphilophium carolinae* colocadas a distancias crecientes del borde hacia el interior de fragmentos de bosque (0, 20, 40, 60 y 80m) durante un evento de pulverización en la matriz de cultivo. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

2. Valoración cuantitativa

2.1 *Bidens subalternans*

2.1.1 Laboratorio: Las plántulas presentaron reducción del crecimiento incluso con $\frac{1}{4}$ de la dosis de campo. La RC_{50} fue de 0,125X, lo que significa que es necesario una dosis de 0,375 l/ha del herbicida, para proporcionar una reducción del 50% del crecimiento de su biomasa. La reducción del crecimiento de las plántulas de esta especie se incrementó significativamente ($p < 0,0001$) a medida que la dosis de herbicida fue mayor, con respecto a las plántulas control, que no recibieron ningún tratamiento con glifosato (Figura 2.3a), alcanzándose una RC superior al 80%, cuando se pulverizó a los ejemplares con apenas $\frac{1}{4}$ de la dosis media de campo. Las dosis subletales de glifosato (0,25X y 0,50X) provocaron reducción del crecimiento severa en las plántulas de esta especie (superior a 75%), por lo que estas dosis de glifosato que suelen estar presentes en la deriva de las pulverizaciones, afectan significativamente el crecimiento de las plantas.

2.1.2 Campo: En el agroecosistema estudiado, las plántulas que se situaron en el borde propiamente dicho (0m) sufrieron una reducción del 65% de su crecimiento, respecto a las plántulas que no fueron trasladadas. Al comparar estos valores de RC con los obtenidos para esta especie en el laboratorio, se puede observar que este porcentaje de daño estaría siendo ocasionado por una dosis de glifosato cercana a 0,25X (precisamente sería por una dosis de 0,19X). En las plántulas de esta especie se registró una disminución significativa ($p = 0,0072$) de la RC, a medida que las mismas se encontraban ubicadas a mayor distancia hacia el interior de los fragmentos. A los 20m hacia el interior de los fragmentos también se registró una importante RC (50%), la cual es alcanzada en laboratorio por una dosis de 0,14X de glifosato. Cabe mencionar que incluso los ejemplares trasladados a 80m hacia el interior de los fragmentos, sufrieron una importante RC (20%) (Figura 2.3b). Este porcentaje de daño observado en las plántulas a los 80m hacia el interior de los relictos de bosque es semejante al observado en el laboratorio cuando se trató a las plántulas con una dosis de glifosato equivalente a 0,125X. Esto nos estaría indicando que hasta al menos 80m las plantas del bosque nativo estarían recibiendo dosis subletales de 0,10X-0,25X de glifosato.

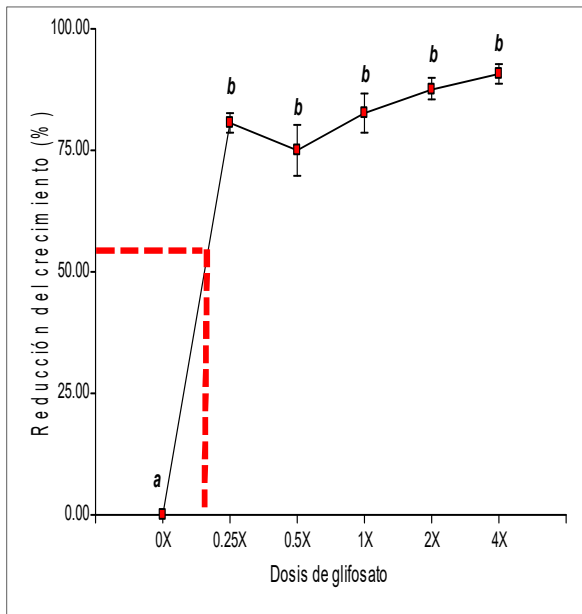


Figura 2.3a. Valoración cuantitativa de los efectos del glifosato en el laboratorio: Porcentajes de reducción del crecimiento (RC) en plántulas de *Bidens subalternans* pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (0X; 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X; X=3l/ha). RC= diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas de la misma especie sin aplicación de glifosato. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

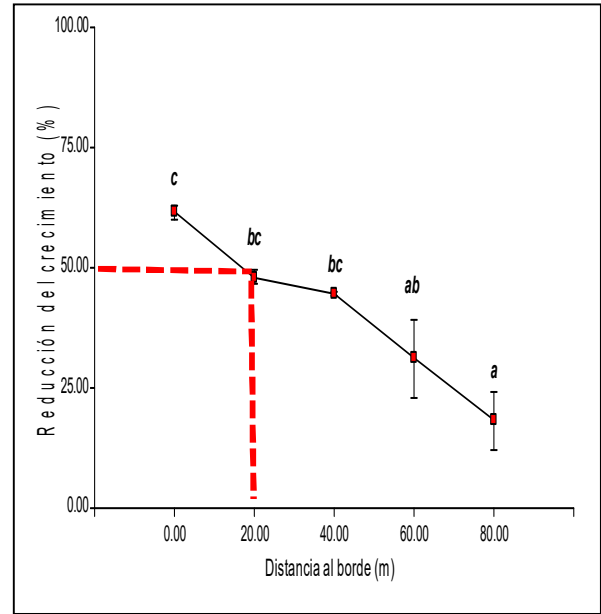


Figura 2.3b. Valoración cuantitativa de los efectos del glifosato en el campo: Porcentajes de reducción del crecimiento (RC) en plántulas de *Bidens subalternans* colocadas a distancias crecientes del borde hacia el interior de fragmentos de bosque (0, 20, 40, 60 y 80m) durante un evento de pulverización en la matriz de cultivo RC = diferencia de peso seco entre las plántulas trasladadas al campo, y las plántulas de la misma especie que permanecieron en invernadero. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

2.2 *Amphilophium carolinae*

2.2.1 Laboratorio: Las plántulas presentaron reducción del crecimiento incluso con $\frac{1}{4}$ de la dosis media de campo. La RC_{50} fue de 1X, lo cual indica que con la dosis utilizada en el campo (3 l/ha) se estaría provocando una reducción del 50% del crecimiento para esta especie. La reducción del crecimiento de las plántulas de *Amphilophium carolinae*, cuando fueron tratadas con dosis crecientes de glifosato en el laboratorio, se incrementó significativamente ($p < 0,0001$) (Figura 2.4a).

2.2.2 Campo: Las plántulas trasladadas al agroecosistema estudiado, sufrieron en el borde de los fragmentos una reducción de hasta el 35% de su crecimiento, respecto a las plántulas control. Este grado de afección es equivalente al observado en laboratorio con una dosis de glifosato de 0,5X.

En las plántulas de esta especie se registró una reducción significativa ($p = 0,0208$) de su crecimiento, a medida que las mismas fueron ubicadas a mayor distancia hacia el interior de los fragmentos, observándose reducción de su biomasa incluso hasta los 80m (Figura 2.4b). La RC registrada a esta distancia del borde es semejante a la obtenida en plántulas de esta especie tratadas en laboratorio con una dosis de 0,10X de glifosato.

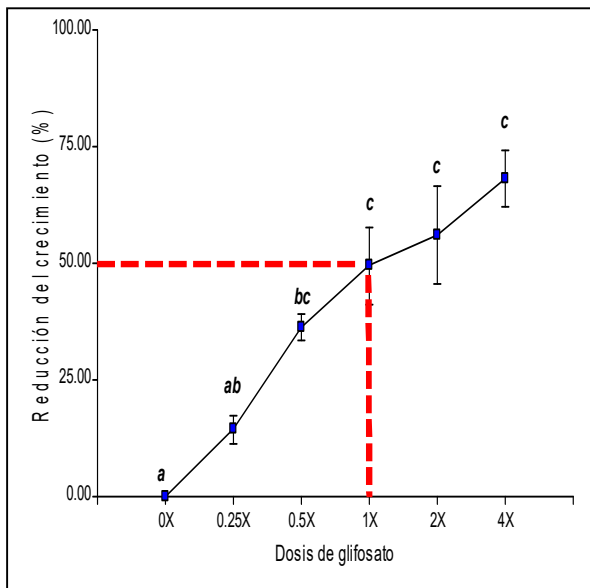


Figura 2.4a. Valoración cuantitativa de los efectos del glifosato en el laboratorio: Porcentajes de reducción del crecimiento (RC) en plántulas de *Amphilophium carolinae* pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (0X; 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X; X=3l/ha). RC= diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas de la misma especie sin aplicación de glifosato. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

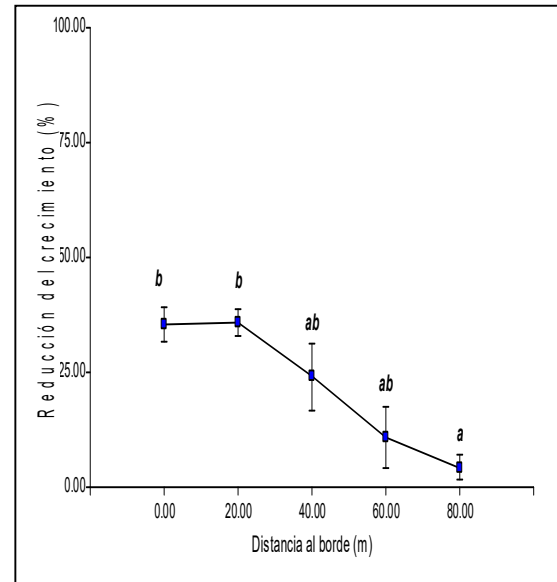


Figura 2.4b. Valoración cuantitativa de los efectos del glifosato en el campo: Porcentajes de reducción del crecimiento (RC) en plántulas de *Amphilophium carolinae* colocadas a distancias crecientes del borde hacia el interior de fragmentos de bosque (0, 20, 40, 60 y 80m) durante un evento de pulverización en la matriz de cultivo RC = diferencia de peso seco entre las plántulas trasladadas al campo, y las plántulas de la misma especie que permanecieron en invernadero. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

DISCUSIÓN

Inmediatamente después de la pulverización, las especies tratadas mostraron síntomas de daños en las plántulas ubicadas entre los 0-20m desde el borde de los fragmentos. Estos resultados eran probables, ya que los efectos más perjudiciales de la deriva de herbicidas se esperan que ocurran cerca del pulverizador (Marrs et al., 1991), ya que a esa distancia podrían estar recibiendo parte de la aplicación desde las últimas boquillas de la barra pulverizadora (Schmitz et al, 2013), y las microgotas contenidas en el spray de pulverización que se volatilizan con el viento (Gove et al., 2007). Sin embargo, los individuos de ambas especies presentaron fitotoxicidad y reducción del crecimiento incluso hasta 80m del borde hacia el interior del bosque. Este resultado es sorprendente desde el punto de vista de la conservación de la biodiversidad, puesto que la pulverización afectó significativamente incluso a la especie menos sensible.

Al realizar una comparación entre los valores de fitotoxicidad y reducción del crecimiento registrados en el campo con los valores de estas variables registrados en plántulas en las que se aplicó un gradiente de concentraciones de glifosato en laboratorio, fue posible estimar que las plantas no-blanco de los fragmentos de bosque estudiados estarían recibiendo, en el borde, por pulverización directa o por deriva al menos $\frac{1}{2}$ de la dosis aplicada de glifosato. Numerosas especies de plantas han demostrado ser sensibles a los herbicidas a las dosis típicamente encontradas en spray de deriva, en términos de mortalidad, producción de biomasa y producción de semillas (Garthwaite et al., 2003). Sin embargo, algunas especies de plantas perennes (como *Amphilophium carolinae*) serían capaces de resistir los daños a los herbicidas o adquirir tolerancia al glifosato. De esta manera, en el largo plazo, las especies de plantas muy deterioradas, es decir, las más susceptibles, pueden tender a desaparecer y ser sustituidas por especies tolerantes o resistentes al glifosato, y afectar de este modo la composición de especies en la comunidad (Marrs et al., 1989).

La modificación del agroecosistema ocasionada por la siembra directa, la utilización de cultivares resistentes a glifosato y el uso intensivo de este herbicida, han producido cambios en la flora de malezas asociadas a los cultivos (Rodríguez, 2004). Desde el punto de vista ecológico, el control químico de malezas actúa como una importante fuerza de selección, mediante la modificación de la abundancia relativa, lo que provoca cambios en las relaciones de dominancia dentro de las comunidades de malezas (Vitta et al., 2000). De esta forma, una de las consecuencias del uso intensivo de un herbicida, con un mismo

principio activo durante un periodo prolongado, es la aparición de individuos que poseen algún grado de tolerancia o de resistencia (Christoffoleti et al., 2008; Owen, 2008) o que poseen mecanismos que le permitan escapar a la acción del herbicida (Scursoni y Satorre, 2010).

De esta manera, la composición de plantas en una comunidad puede ser modificada por dosis subletales del herbicida que llegan a los márgenes de campos de cultivo. Boutin y Jobin (1998) encontraron que los bosques que colindaban con campos de cultivo gestionados de forma intensiva, contenían más especies anuales y herbáceas que aquellos bosques que estaban junto a campos de cultivo gestionados con menor intensidad, donde predominaban las especies perennes, principalmente. Por otro lado, Gove et al. (2007) demostraron implicancias a largo plazo del uso de herbicidas en seis especies forestales. Sus experimentos de invernadero y en el campo, mostraron que varias especies se vieron afectadas por el tratamiento de glifosato y que la sensibilidad difería entre las especies. Un estudio de campo complementario encontró que las especies más sensibles documentadas en los experimentos de invernadero eran también las menos abundantes en los campos con elevada deriva de herbicidas (Gove et al., 2007).

Tamaño de las “zonas buffer”

Una importante conclusión que puede extraerse de los resultados de este capítulo, es que la estimación de la “zona buffer” de 6-10m hecha por Marrs et al. (1989), utilizando plantas individuales a favor del viento, sería demasiado estrecha, más aún si se tiene en cuenta varias exposiciones acumulativas de glifosato al año, y una serie de procesos, tales como la floración, la producción de semillas y la viabilidad de las mismas (Boutin et al., 2014). Algunos trabajos previos han encontrado que cuando se consideraron plántulas, la distancia tiene que ser de al menos 20m, aunque especies sensibles mostraron síntomas de fitotoxicidad entre 20 y 40m (Breeze et al, 1992; Marrs et al, 1993). Sin embargo, otros estudios han demostrado daños de la deriva de bioensayos hasta 100m de distancia (Byass y Lake, 1977). Es posible, por ejemplo, que combinaciones de velocidades del viento inusuales y la humedad atmosférica puedan interactuar con las gotitas producidas a partir de pulverizadores fijados a una presión y a una altura inadecuadas, y con boquillas defectuosas, y que, en consecuencia, se produzca la deriva de la pulverización sobre áreas mucho más grandes de las que se predicen normalmente (Marrs et al., 1991).

En resumen, los resultados aquí presentados acerca de los graves efectos de la deriva del glifosato en condiciones de aplicación reales en el campo, sugieren que las “zonas buffer” de los bosques inmersos en agroecosistemas, deberían ser de al menos 80m. Una “zona buffer” de este ancho, sobre la base de la evidencia aquí presentada, podría reducir los efectos letales y subletales del glifosato, aunque algunas especies muy sensibles, como *Bidens subalternans*, pueden mostrar daños severos dentro de esta zona. Sin embargo, los presentes resultados se basan en una sola aplicación y las pulverizaciones continuas quizá podrían tener efectos más graves que los que se observan aquí.

Los resultados muestran que la deriva de las pulverizaciones de glifosato produce efectos negativos en ambas especies nativas y, en consecuencia, es razonable pensar que la supervivencia de gran parte de la flora de los fragmentos de bosque inmersos en agroecosistemas con cultivos transgénicos este siendo afectada.

Si bien los estudios realizados sobre los impactos ambientales y la salud humana provocados por el glifosato fueron desarrollados para un determinado nivel de utilización, actualmente se está produciendo un cambio radical en las diferentes formas de consumo del herbicida. Un cambio de patrón en el uso del mismo que incrementa los volúmenes, las condiciones y formas de aplicación, que marcan un exceso muy marcado y ameritarían la necesidad de implementar, por un lado, principios de prudencia básicos y, por el otro, nuevos estudios para analizar los daños que puede llegar a producir su sobreutilización (Pengue, 2003). La ausencia de valoración adecuada para regular los efectos de los herbicidas puede tener importantes implicancias ecológicas para la supervivencia de las plantas, la producción de semillas, la composición del banco de semillas a largo plazo, y la eventual reposición de no sólo los productores primarios, sino también de especies en otros niveles tróficos. Por lo que resultaría urgente, adoptar medidas para reducir el uso de herbicidas y aliviar los efectos de la deriva en los organismos no-blanco (De Jong et al., 2008).

Hasta el momento, las decisiones para tomar precauciones contra la deriva del herbicida se han basado, en la mayoría de los casos, en motivos económicos y agronómicos (Marshall y Birnie 1985; Rew et al., 1992). Los experimentos aquí presentados muestran algunas de las consecuencias del herbicida glifosato y de la deriva resultante de su aplicación, y pueden contribuir a la construcción de un marco para la toma de medidas preventivas contra la deriva de agroquímicos en base a criterios económicos (generación de nuevas malezas) y de la protección de la vida silvestre.

CAPÍTULO III

EFFECTOS DEL GLIFOSATO EN PLANTAS NATIVAS NO BLANCO: SUSCEPTIBILIDAD DE LAS ESPECIES EN RELACIÓN AL GRADO DE EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO EN LOS FRAGMENTOS DE BOSQUE

INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de la agricultura, el aumento en la producción global de alimentos provino, casi exclusivamente, de la expansión de los cultivos sobre áreas naturales (Ramankutty et al., 2006; Stewart y Robinson, 1997). Según diversas estimaciones, durante los últimos cuatro siglos el área dedicada a tierras de cultivos pasó de valores insignificantes a ocupar entre el 40 y el 50% del área de la tierra, a expensas de los bosques, pastizales naturales y humedales (Janzen, 2004; Richards, 1990). Entre 1882 y 1991, se registró un aumento del 75% en la superficie mundial dedicada a cultivos anuales, sumado a un aumento del 113% en pasturas implantadas (Norse et al., 1992). Actualmente, la expansión de las tierras agrícolas es uno de los cambios más significativos en el uso y cobertura de la tierra en todo el mundo (Frank et al., 2014; Matson et al., 1997; Viglizzo et al., 1997). Los cambios en el uso de la tierra en Argentina se aceleraron hacia finales de 1970 (Barsky y Gelman, 2009; Manuel-Navarrete et al., 2009). La liberación en la comercialización de la soja transgénica en 1996, significó el primer paso para la consolidación del modelo biotecnológico en el agro argentino, el cual consiste, básicamente, en la utilización de semillas genéticamente modificadas, agroquímicos de nueva generación, maquinarias y siembra directa (labranza cero). De esta manera, los Bosques Chaqueños del centro de Argentina han sufrido, en las últimas décadas, un acelerado proceso de fragmentación, como consecuencia de la expansión de la frontera agropecuaria, la tala y los incendios forestales (Torrella y Adámoli, 2006; Zak et al., 2004; Zak y Cabido, 2005).

Dado que la siembra directa y las semillas transgénicas dependen en gran medida de los productos agroquímicos como la principal estrategia para el control de las malezas y las plagas, el glifosato se ha convertido en el agroquímico más utilizado en la Argentina. Entre 1996 y 2009, el uso de glifosato aumentó de 14 millones a más de 200 millones de litros (1.400 %) anuales (Cáceres, 2015; Giarracca y Teubal, 2010).

En Argentina Central, la fragmentación del bosque usualmente ocurre con pérdida de bosque, y el resultado final de este proceso es un paisaje con fragmentos de vegetación nativa, generalmente rodeados por una matriz de cultivos transgénicos (Cáceres, 2015). En distintos estudios, se ha observado que la composición, estructura y funcionamiento de las comunidades pueden verse fuertemente modificadas por el proceso de fragmentación del bosque (por ejemplo, Aguilar et al., 2006; Díaz Velez et al., 2015; Fahrig, 2013; Ferreras et al. 2008; Hill y Curran, 2001; Jacquemyn et al., 2001; Laurance et al., 2006; Williams-Linera, 2002). En algunos casos, el área de los fragmentos de bosque es el atributo de mayor influencia en las variables evaluadas sobre composición y procesos de regeneración de plantas (Benitez- Malvido, 1998; Echeverría et al., 2007). Se ha observado que muchas especies serían sensibles a las condiciones ambientales de los bordes de los fragmentos (Harper et al., 2005; Laurance, 2000; Murcia, 1995), pudiendo múltiples factores físicos y bióticos generados en la matriz, ejercer su influencia en la composición, supervivencia y dinámica de las poblaciones de plantas presentes en los remanentes de bosque (Benitez-Malvido y Martínez-Ramos, 2003; Jules y Shahani, 2003; Laurance et al., 1998; Santos y Tellería, 2006).

El tamaño y la forma de los fragmentos condicionan en gran medida las posibilidades de mantener las poblaciones de algunas especies. Al aumentar la fragmentación se producirían aumentos en la probabilidad de extinción local de especies de la flora nativa (Tiscornia et al., 2014). A medida que el tamaño de los fragmentos se reduce, el aislamiento y el nivel de exposición de las plantas a los agroquímicos crece; por lo cual, numerosas especies se hacen más vulnerables a las invasiones, las enfermedades, la deriva de agroquímicos utilizados en la matriz agrícola, etc. y, pasados ciertos umbrales, la extinción se hace inevitable (Fahrig, 2001; Gurrutxaga y Lozano, 2008; Múgica de la Guerra et al., 2002).

Numerosas especies de plantas han demostrado ser sensibles a los herbicidas a las dosis típicamente encontradas en spray de deriva, en términos de mortalidad, producción de biomasa y producción de semillas (Garthwaite et al., 2003). Por ejemplo, algunas

poblaciones vegetales pueden ser especialmente vulnerables al glifosato o sus coadyuvantes en dosis de deriva. Se ha demostrado que en las plantas vasculares los principios activos del glifosato se translocan tanto por el xilema como por el floema, y se distribuyen con rapidez por toda la planta, inhibiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos, e interfiriendo en otros procesos metabólicos (Civeira, 2012).

Otra de las consecuencias de la modificación del agroecosistema ocasionada por la siembra directa, la utilización de cultivos resistentes a glifosato y el uso intensivo de este herbicida, como ya se ha mencionado en los Capítulos anteriores, es que se han producido importantes cambios en la flora de malezas (Rodríguez, 2004). Desde el punto de vista ecológico, el control químico de malezas actúa como una importante fuerza de selección, mediante la modificación de la abundancia relativa, lo que provoca cambios en las relaciones de dominancia dentro de las comunidades de plantas (Christoffoleti et al., 2008; Leguizamón y Ferrari, 2005; Vitta et al., 2000). Cuando se aplica un herbicida se crean condiciones ambientales artificiales extremas negativas para el crecimiento y desarrollo de la vegetación (Monquero, 2003; Rodríguez, 2004). Si este ambiente, artificialmente generado, persiste y/o se reitera en el tiempo, se producirá una reducción significativa en la frecuencia de los biotipos susceptibles y un incremento de los tolerantes y/o de los resistentes (Christoffoleti et al., 2008; Dellaferrera, 2013; Vitta et al., 2004). De esta forma, una de las desventajas del uso de estos productos es la evolución de malezas resistentes a herbicidas (Valverde et al., 2000). El empleo extensivo de glifosato asociado a la siembra directa, es una tecnología cuyas ventajas agronómicas están fuera de discusión, sin embargo, también es cierto que el problema de las malezas no ha desaparecido y en numerosos casos particulares se ha agravado (Vitta et al., 2004).

Los síntomas de fitotoxicidad producidos por el glifosato, que se pueden observar en las plantas a simple vista, son la detención del crecimiento y clorosis en las hojas, seguidas de necrosis de tejidos y marchitamiento de la planta. En algunas especies, el follaje se torna de color rojizo (Tuesca y Nisensohn, 2004). Dichos síntomas visuales son más acentuados y ocurren primero en el ápice y zonas meristemáticas, luego se extienden a partes más viejas de las plantas. Con frecuencia, los rebrotes en especies perennes muestran hojas malformadas y estriadas (García-Torres y Fernandez-Quintanilla, 1989). Una planta que sobrevive a la acción de un herbicida modifica su patrón de crecimiento debido, principalmente, a la acción ejercida por el herbicida sobre los meristemas (Meusel et al.,

1977), variando su respuesta fisiológica y redirigiendo el crecimiento a meristemas remanentes (Dellaferrera, 2013; Malpassi, 2004).

La relación entre la dosis de un herbicida y el efecto que produce sobre la planta es de fundamental importancia para la comprensión de la eficacia y el modo de acción del mismo (Seefeldt et al., 1995). La dosis media de reducción del crecimiento (RC_{50}) es el estimador más utilizado para evaluar la sensibilidad de una planta a un herbicida, siendo útil además para realizar comparaciones entre diferentes experimentos de dosis-respuesta (Streibig, 1988). La comparación de distintas dosis que producen efectos sobre las plantas, permite conocer la cantidad necesaria que debe aplicarse de un determinado herbicida para conseguir el resultado esperado (Ritz et al., 2006).

Por otro lado, la etapa de desarrollo de las plantas juega un papel fundamental en la sensibilidad de las plantas tratadas con herbicidas, tales como el glifosato (Marrs et al, 1991a; Ruiter et al., 2000). Riemens et al. (2008) encontraron que las plántulas y plantas jóvenes fueron, generalmente, más sensibles al herbicida que las plantas en un estadio avanzado de su crecimiento. Dado que las comunidades naturales están integradas por plantas en diferentes etapas de desarrollo, los efectos del herbicida dependerán también de la fenología de las especies y la edad de las plantas en el momento de exposición al herbicida (Riemens et al., 2008).

Desde el punto de vista agrícola, en la Provincia de Córdoba, se han producido importantes cambios en el uso del suelo como ya se explicara más arriba. Sin embargo, poco es lo que se conoce acerca de los impactos del uso de glifosato en organismos no-blanco que viven en remanentes de Bosque Chaqueño inmersos en matrices agrícolas.

En este contexto, el objetivo principal de este Capítulo es determinar experimentalmente, en 24 especies vegetales nativas, los efectos de diferentes concentraciones de glifosato en plántulas de cinco y diez semanas post-emergencia, originadas a partir de semillas provenientes de fragmentos de bosque nativo con distinto grado de exposición al glifosato.

De acuerdo a los antecedentes presentados, se espera que la fitotoxicidad y la reducción de crecimiento en las especies de plantas nativas estudiadas sea: a) mayor en plántulas cuyas semillas de origen provengan de fragmentos de bosque con menor grado de exposición al glifosato (i.e., menor presión de selección de biotipos tolerantes) en comparación a aquellas poblaciones que han estado más expuestas, y b) sea mayor en

plántulas en estadios de desarrollo temprano en comparación a estadios posteriores de desarrollo.

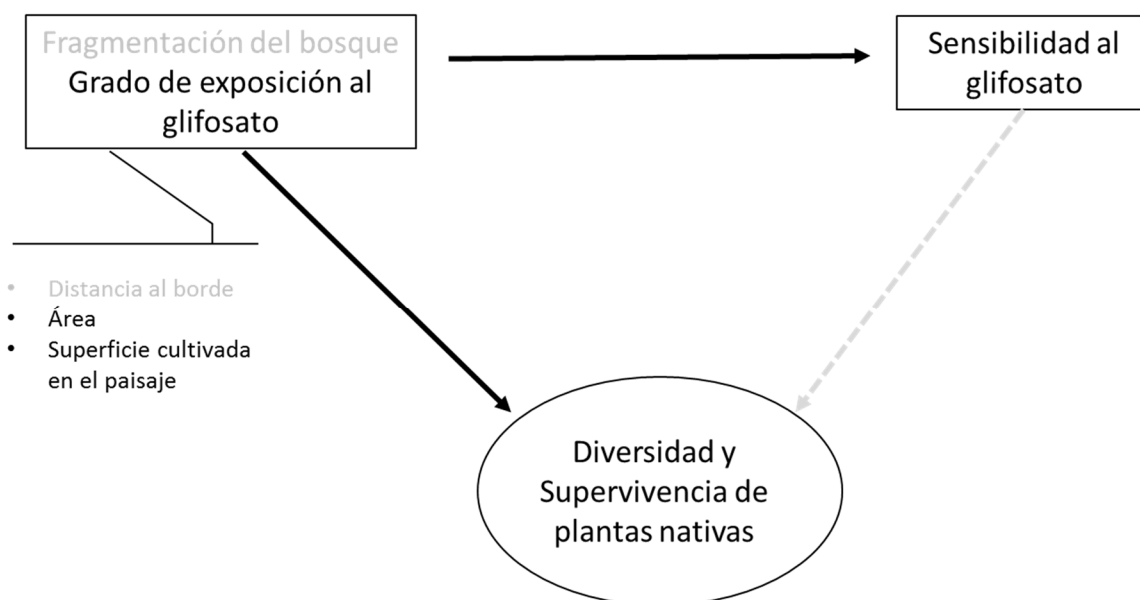


Figura 1. Modelo conceptual que describe las relaciones esperadas entre la diversidad y la supervivencia de las plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados, el grado de fragmentación del bosque nativo, el grado de exposición al glifosato, y la sensibilidad de las especies nativas al herbicida. Se resaltan los factores y las variables que serán abordados en el Capítulo III para evaluar como el grado de exposición donde vivan las especies y la sensibilidad de las mismas al glifosato, pueden afectar la diversidad y la supervivencia de las comunidades naturales estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

2. Sitios de estudio

Este estudio se llevó a cabo en dos etapas, una de campo y otra experimental en invernadero bajo condiciones controladas. La etapa de campo consistió en la recolección de semillas en distintos sitios de Bosque Chaqueño descritos en la sección Materiales y Métodos Generales. La recolección de semillas se realizó en 20 fragmentos de bosque de distinto tamaño, y por lo tanto con diferentes grados de exposición histórica al glifosato: 6 fragmentos pequeños (0,4 – 4 ha) y por lo tanto con alta exposición (70-100% de su superficie circundante rodeada de cultivos), 7 fragmentos medianos (5-30 ha) con exposición media (30-69% de su superficie circundante rodeada de cultivos) y 7 fragmentos

de bosque nativo grandes (más de 100 ha) con baja exposición al glifosato (0-30% de su superficie circundante rodeada de cultivos). Estos relictos de bosque se encuentran inmersos en matrices agrícolas en las cuales se siembra soja transgénica, y se utiliza, en forma continuada, glifosato como principal herbicida. Debido el nivel histórico exposición al glifosato, en los análisis realizados en este capítulo se considerará al origen de las semillas, como provenientes de fragmentos con alta, media y baja exposición comparativa al glifosato.

2. *Especies estudiadas*

Se trabajó con plántulas originadas a partir de semillas de 24 especies nativas, presentes en los relictos de bosque estudiados, las cuales se detallan en la Tabla 3.1. Las especies se seleccionaron con el objetivo de abarcar una diversidad de características respecto a: i) familias botánicas (Asteraceae, Solanaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Phytolaccaceae, Passifloraceae, Poaceae, Amaranthaceae, Malvaceae, Celtidaceae, Fabaceae, Sapindaceae y Bignoniaceae), ii) hábitos (hierbas, arbustos, enredaderas, lianas y árboles) y iii) formas de vida (anuales y perennes).

Se colectaron semillas de 10 individuos por especie, en cada categoría de tamaño de fragmentos. Las semillas se pusieron a germinar en germinadores de plástico con una mezcla 2:1 de tierra y arena estériles, manteniendo siempre las plántulas en germinadores separados, según si se trataba de semillas provenientes de fragmentos pequeños, medianos o grandes. Los mismos se mantuvieron bajo condiciones homogéneas de luz, temperatura y humedad en cámaras de germinación (16h de luz y 8h de oscuridad, 25°C y 60% de humedad), regándolas periódicamente. Luego de la emergencia de las plántulas, se dejó solo una por cubículo en cada germinador.

3. *Aplicaciones de glifosato*

El experimento se llevó a cabo desde Agosto a Noviembre de 2013. Fueron tratadas con glifosato un total de 2592 plántulas, 36 plántulas correspondientes a cada una de las 24 especies para cada una de las tres categorías de tamaño de fragmentos (864x3). Además, se realizaron dos tratamientos dentro de cada categoría de tamaño de fragmento: a) aplicación temprana de herbicida: cuando las plántulas desarrollaron de 2 a 4 hojas (5 semanas posteriores a la emergencia, aproximadamente), b) aplicación tardía de herbicida: cuando las

plántulas desarrollaron de 5 a 10 hojas (10 semanas posteriores a la emergencia, aproximadamente).

En ambos casos, las plántulas fueron asignadas, aleatoriamente, a seis tratamientos independientes, con concentraciones crecientes de glifosato 70% (Credit Full, Nufarm, sal potásica de glifosato 66,2% p/v). Se aplicó el siguiente gradiente de concentraciones de glifosato: control (sin aplicación de herbicida); 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X, considerando como X a la dosis media de aplicación en el campo (3 litros ha⁻¹ : 2100 g ai/ha). En total, se asignaron 18 plántulas de cada especie para cada una de las dos edades de las plántulas evaluadas (5 y 10 semanas), con 3 plántulas por especie para cada uno de los 6 tratamientos con dosis crecientes de glifosato. 2100 g ai/ha

Las plántulas fueron trasladadas desde el invernadero hasta una parcela especial aislada, en donde se realizaron las pulverizaciones de glifosato. El herbicida fue aplicado tal como ya se describió en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo I. Las plántulas fueron trasladadas nuevamente al invernadero, 24h posteriores al tratamiento con el herbicida.

4. Valoración de los efectos del glifosato

4.1 Valoración cualitativa

Luego de 21 días de la aplicación del glifosato, se realizaron observaciones visuales en las plántulas a fin de determinar el nivel de la afección de acuerdo a la manifestación de síntomas de fitotoxicidad: clorosis, daño foliar y/o marchitez (Riemens et al., 2008). Los métodos utilizados se detallan en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo I.

4.2 Valoración cuantitativa

Después de 21 días de la aplicación, se procedió a valorar de forma cuantitativa la respuesta a dosis crecientes del herbicida mediante la medición del peso seco de las plántulas tratadas y el cálculo de su correspondiente reducción del crecimiento, RC₅₀ e Índice de Sensibilidad (IS), tal como se describe en la sección de Materiales y Métodos del Capítulo I. Con los valores de reducción de crecimiento obtenidos, se construyeron, para cada especie, curvas de dosis-respuesta (Seefeldt et al., 1995) considerando el momento de aplicación del glifosato (temprano o tardío) y el grado de exposición al glifosato de los fragmentos de

origen de las semillas (alto, medio y bajo). En este grupo de especies, la más susceptible al glifosato fue *Bidens subalternans*, por lo cual se utilizó su RC_{50} como referencia para calcular el IS de cada una de las especies tratadas. Posteriormente, se clasificaron las especies según su respuesta a la aplicación de glifosato, considerando su IS, en dos grupos: Especies sensibles (IS menor a 5), y Especies tolerantes (IS mayor a 5), en cada momento de aplicación al glifosato: aplicación temprana y tardía.

5. Análisis de los datos

Para comparar la fitotoxicidad y la reducción del crecimiento de las plántulas tratadas con diferentes dosis de glifosato, se realizaron análisis de la varianza con el programa estadístico R (<http://www.R-project.org>), tomando como factores independientes: la dosis de glifosato empleada en cada tratamiento (0X, 0,25X, 0,5X, 1X, 2X y 4X), la categoría del tamaño del fragmento de origen de las semillas (pequeño, mediano y grande) y el estado de desarrollo de las plántulas cuando se aplicó el herbicida (temprano o tardío). En el caso de la valoración cualitativa, la variable de respuesta considerada fue el porcentaje de fitotoxicidad observado en cada especie, con cada dosis de glifosato. En el caso de la valoración cuantitativa, la variable de respuesta considerada fue la reducción del crecimiento de las plántulas de cada especie, con cada dosis de glifosato. Las comparaciones *a posteriori* fueron realizadas utilizando el test de Tukey para comparar la diferencia de medias (se consideraron diferencias significativas $p < 0,05$).

Para evaluar la variación de la reducción del crecimiento a nivel de la comunidad de especies estudiadas, según se realizó el tratamiento con glifosato en un estadio temprano o tardío de crecimiento, se realizó un ANOVA bifactorial anidado, tomando como factores independientes el momento de aplicación (temprano, tardío), y la dosis de glifosato empleada en cada tratamiento (factor anidado). La variable respuesta considerada fue la reducción de crecimiento de las plántulas de cada especie, con cada dosis de glifosato.

Para analizar la variación en la reducción del crecimiento entre los diferentes momentos de aplicación, según el nivel histórico de exposición al glifosato (alto, medio y bajo), también se realizaron ANOVAs bifactoriales anidados, tomando como factores independientes el momento de aplicación (temprano, tardío), y la dosis de glifosato empleada en cada tratamiento (factor anidado), en cada categoría de exposición al glifosato.

Se realizaron gráficos de dispersión para evaluar la respuesta del grupo de especies tolerantes y sensibles en las dos condiciones extremas de origen de las semillas, es decir según provenían de fragmentos de bosque con alto o bajo nivel de exposición histórica al glifosato, según el Índice de Sensibilidad (IS) calculado para cada especie. Se ajustó un modelo de regresión en cada uno de los casos, para cada dosis del herbicida (se consideraron tres dosis del gradiente: 0,25X; 0,5X, y 1X según criterios que se expondrán en la sección de Resultados).

Por último, se ajustaron Modelos Lineales Generales y Mixtos (GLM) en la valoración cuali- y cuantitativa de los resultados, con el fin de encontrar un modelo que mejor explique las variaciones encontradas en la variable respuesta (RC_{50} , reducción de crecimiento y fitotoxicidad, según cada caso) separando las especies en tolerantes o sensibles.

RESULTADOS

1. *Efectos del glifosato según valoración cuantitativa*

1.1 *Reducción del crecimiento*

Las 24 especies tratadas presentaron reducción del crecimiento en todo el gradiente de concentraciones de glifosato, aún con $\frac{1}{4}$ de la dosis habitualmente utilizada en el campo (Figura 3.1). La reducción del crecimiento fue significativamente mayor a medida que la dosis de glifosato se incrementaba ($F_{(4)}=135,59$; $p<0,0001$; Tabla 3.3 A y B). La reducción del crecimiento promedio, comparando las plantas control con las tratadas con distintas dosis de glifosato, fue del 35% con $\frac{1}{4}$ de la dosis utilizada en el campo y superior al 75% con la dosis habitualmente usada en el campo (Figura 3.1).

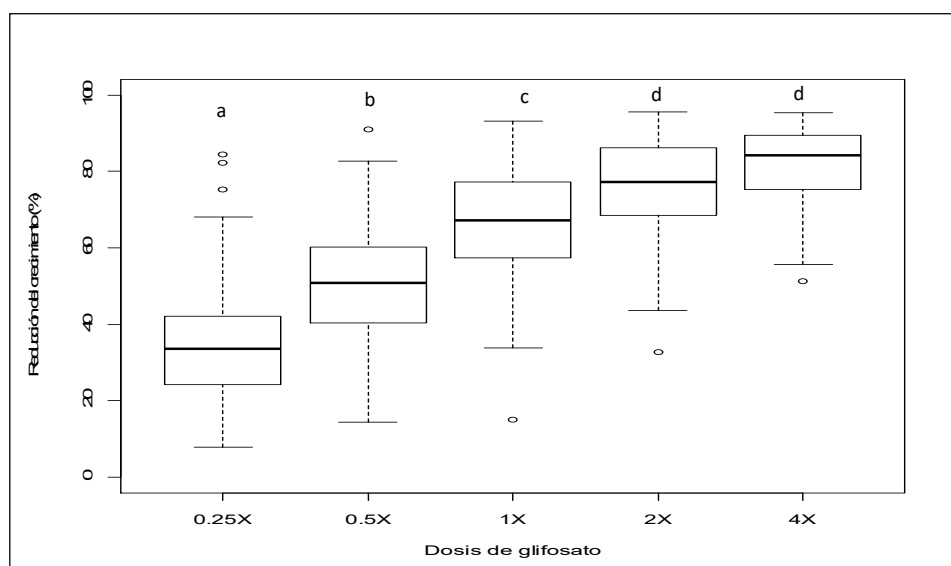


Figura 3.1. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: Reducción del crecimiento promedio para plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (X = 3 l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis de glifosato y las plántulas sin aplicación de glifosato (control). Letras distintas indican diferencias significativas.

La reducción del crecimiento registrada en promedio para las 24 especies fue significativamente superior en las plántulas tratadas 5 semanas después de la emergencia (aplicación temprana) que en aquellas en las que el glifosato se aplicó 10 semanas después de la emergencia (Tabla 3.1; Figura 3.2).

Tabla 3.1. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: ANOVA bifactorial anidado para analizar la reducción de crecimiento según el momento de aplicación del glifosato (temprana y tardía) sobre plántulas de 24 especies de plantas nativas estudiadas, teniendo en cuenta un gradiente de dosis de glifosato. El factor dosis estuvo anidado dentro del factor momento de aplicación. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, SC “suma de cuadrados”, CM “cuadrados medios”, F “estadístico F”, *** =<0.001

	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento de aplicación	1	7729	7729	42.622	4.2e-10 ***
Dosis de glifosato	4	69215	17304	95.418	< 2e-16 ***
Momento: Dosis	4	498	124	0.686	0.602
Residuos	230	41710	181		

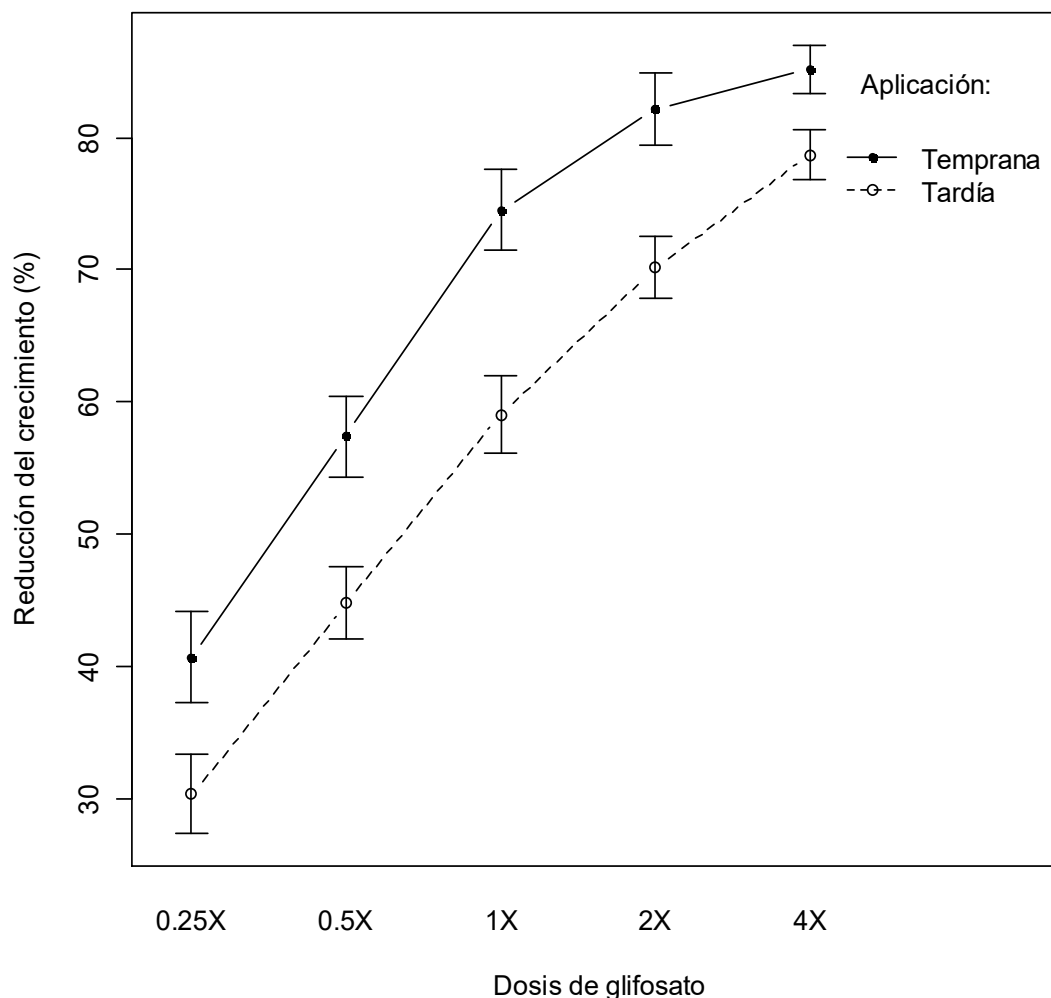


Figura 3.2. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento promedio para 24 especies de plantas nativas no-blancas pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). La mitad de las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y la otra mitad, diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento.

No se encontraron diferencias significativas en la RC entre el promedio de plántulas de 24 especies cuyas semillas se originaron en fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición al glifosato ($F_{(1)} = 2,53$; $p = 0,080$) (Figura 3.3).

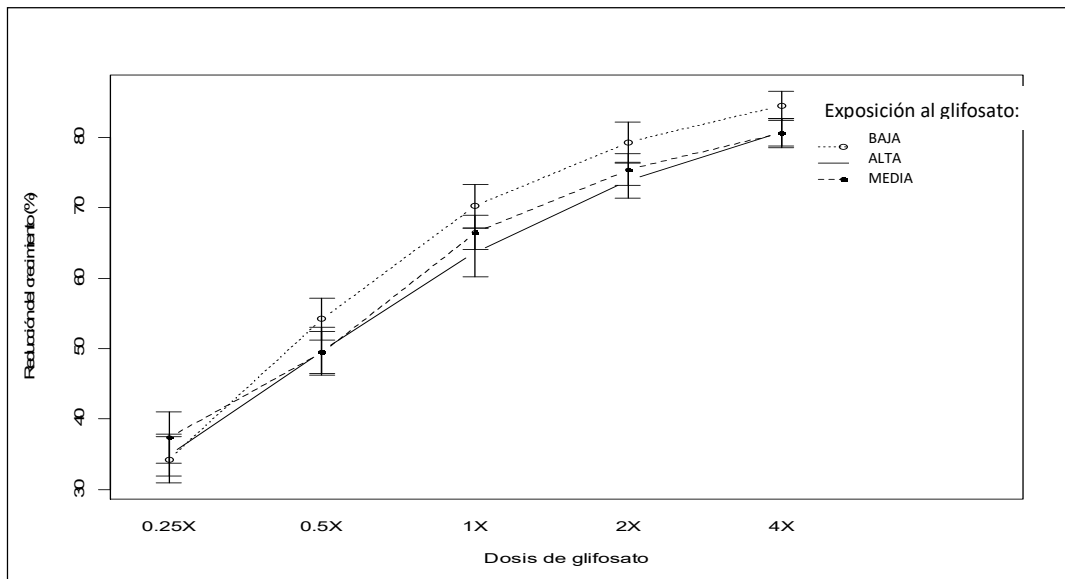


Figura 3.3. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

Sin embargo, es muy interesante analizar en detalle las diferencias promedios para las tendencias entre los momentos de aplicación, cuando se separan las plantas de acuerdo al nivel histórico de exposición al glifosato (origen de las semillas de las especies, según categorías de tamaño del fragmento; Fig. 3.4): a) se observa que, en general, los efectos promedios son más grandes a medida que se aumenta la dosis en los tres casos; b) la aplicación temprana produce mayor mortalidad promedio que la aplicación tardía; c) las diferencias en la mortalidad promedio es mayor entre la aplicación temprana y tardía en las plantas originadas de semillas de un fragmento chico (mayor exposición histórica al glifosato), en comparación a las plántulas originadas de semillas de fragmentos medianos y grandes (menor nivel de exposición al glifosato); d) la mortalidad promedio se incrementa más lento (menor pendiente) en el gradiente de dosis aplicadas, en las plantas originadas de semillas de un fragmento chico (mayor exposición histórica al glifosato), en comparación a las plántulas originadas de semillas de fragmentos medianos y grandes (menor nivel de exposición al glifosato), tanto si la aplicación fue temprana o tardía (Figura 3.4; Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: ANOVAs bifactoriales anidados para analizar las variaciones en la reducción de crecimiento según el momento de aplicación del glifosato sobre plántulas de 24 especies de plantas nativas estudiadas, en cada uno de los niveles históricos de exposición al glifosato. El factor dosis estuvo anidado dentro del factor momento de aplicación. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, SC “suma de cuadrados”, CM “cuadrados medios”, F “estadístico F”, *** =<0.001, ** = <0.01

FRAGMENTOS CON ALTA EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO					
	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	16138	16137.6	55.3767	1.971e-12 ***
Dosis	4	66750	16687.5	57.2637	< 2.2e-16 ***
Momento: Dosis	4	393	98.2	0.3371	0.8528
Residuos	230	67025	291.4		
FRAGMENTOS CON EXPOSICIÓN MEDIA AL GLIFOSATO					
	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	2693	2693.4	9.7321	0.002042 **
Dosis	4	62992	15748.0	56.9023	< 2.2e-16 ***
Momento: Dosis	4	779	194.7	0.7036	0.590183
Residuos	230	63654	276.8		
FRAGMENTOS CON BAJA EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO					
	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	5903	5902.5	21.1291	7.026e-06 ***
Dosis	5	104470	20894.0	74.7932	< 2.2e-16 ***
Momento: Dosis	5	1872	374.4	1.3401	0.2481
Residuos	234	65369	279.4		

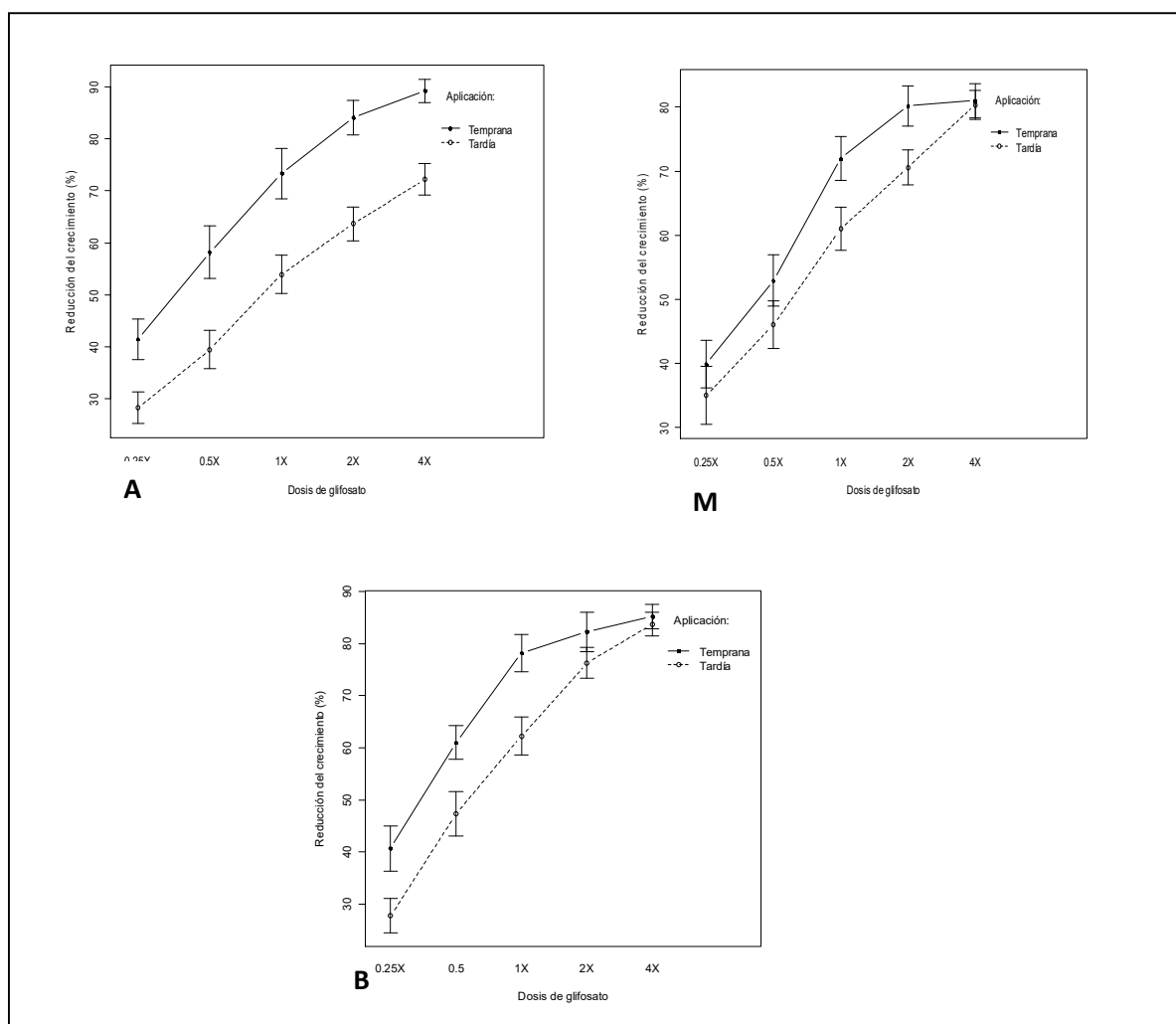


Figura 3.4. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento promedio para 24 especies de plantas nativas no-blancas pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). La mitad de las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y la otra mitad, diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta (A), media (M) y baja (B) exposición al glifosato.

Estas tendencias generales en las respuestas promedio de las 24 especies según se divida a las plantas según se hayan originado de semillas de fragmentos chicos (mayor exposición histórica al glifosato), medianos o grandes (menor nivel comparativo de exposición al glifosato) y de acuerdo a si la aplicación glifosato fue temprana o tardía, es posible analizarlas aun con más detalle cuando se visualizan las respuestas de cada especie (Tabla 3.3 A y B; Apéndice I). En el Apéndice I se muestran las curvas de dosis-respuesta

para cada una de las 24 especies tratadas, considerando el momento de aplicación del glifosato y el grado de exposición al glifosato de los fragmentos de bosque en donde se recolectaron las semillas. Allí se observa que en la mayoría de las especies para la aplicación temprana no se encontraron diferencias significativas al comparar las curvas de reducción del crecimiento según el origen de las semillas (fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición), con excepción de algunas tendencias interesantes en algunas Malvaceae y Poaceae (Apendice I). En particular, se destaca la reducción significativa del crecimiento en plántulas de las especies *Bouteloua curtipendula*, *Abutilon pauciflorum*, *Amphilophium carolinae*, *Sida dyctiocarpa*, *Sida rhombifolia*, *Ipomoea purpurea* y *Sida spinosa*, las cuales mostraron una respuesta diferencial a la pulverización de glifosato, según las plántulas provenían de sitios con alta y baja exposición al glifosato (Apendice I). Es importante destacar que las últimas cinco especies mencionadas, fueron consideradas en los análisis posteriores (ver subsección 4.2 de Materiales y Métodos) como tolerantes al herbicida por presentar un Índice de Sensibilidad (IS) mayor a 5 cuando fueron tratadas en un estadio temprano de crecimiento (Tabla 3.3 A). Las otras dos especies (*Bouteloua curtipendula* y *Abutilon pauciflorum*), si bien no estuvieron en el grupo de especies tolerantes, presentaron un IS de 3,5 y 3,4 respectivamente (Tabla 3.3 A), lo cual indicaría que las especies con un Índice elevado de sensibilidad presentan variaciones en su susceptibilidad al glifosato de acuerdo al origen de sus semillas.

En cambio, los resultados de la aplicación tardía mostraron resultados más claros en donde 16 de las 24 especies muestran una tendencia a mostrar reducción de crecimiento más marcada en las dosis más altas (1 a 4X) en las plántulas originadas en fragmentos medianos o grandes (menor exposición histórica) en comparación a las plántulas originadas de las semillas de fragmentos pequeños (mayor exposición al glifosato; Apéndice I). En particular, el análisis cuantitativo de las especies que fueron pulverizadas con glifosato en una etapa más avanzada del crecimiento (10 semanas post-emergencia) (Tabla 3.3 B), mostró una reducción del crecimiento significativa entre las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos de bosque con alta, media y baja exposición al herbicida en catorce especies: *Bouteloua curtipendula*, *Exhalimolobos weddellii*, *Jarava ichu*, *Setaria hunzikeri*, *Paspalum malacophyllum*, *Rivina humilis*, *Iresine diffusa*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Dysphania ambrosioides*, *Sida rhombifolia*, *Baccharis glutinosa*, *Setaria parviflora* y *Abutilon pauciflorum*. El resto de las especies tratadas mostraron respuestas comparables (no estadísticamente significativas) en términos de reducción del crecimiento, independientemente del origen de sus semillas. Si bien las primeras cinco especies

mencionadas recientemente, no pertenecen al grupo de especies tolerantes al glifosato cuando son tratadas en un estadio tardío de crecimiento (ver subsección 4.2 de Materiales y Métodos), su IS fue elevado (siempre mayor a 3,3) (Tabla 3.3 B).

Tabla 3.3. A. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa reducción del crecimiento en 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$), comparando las respuestas de las plántulas según el origen de las semillas (provenientes de fragmentos chicos, medianos o grandes a partir de lo cual se hipotetiza una exposición histórica al glifosato alta, media y baja, respectivamente) y el promedio general de cada especie. Los datos muestran los porcentajes de reducción del crecimiento respecto al control (plántulas de la misma especie en las que no se aplicó ningún tratamiento con glifosato) y su correspondiente desvío estándar (DE). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). Las especies fueron ordenadas en orden decreciente de sensibilidad a glifosato (según IS).

REDUCCIÓN DEL CRECIMIENTO (APLICACIÓN TEMPRANA)													
DOSIS DE GLIFOSATO													
Especie	Exposición al glifosato	0,25X	DE	0,5X	DE	1X	DE	2X	DE	4X	DE	RC50	IS
<i>Bidens subalternans</i>	ALTA	73,113	1,717	59,830	13,974	64,013	7,216	90,908	1,930	94,184	2,580	0,150	1,000
	MEDIA	82,331	4,223	90,537	4,210	92,411	6,462	77,978	6,755	85,792	3,221	0,130	1,000
	BAJA	83,895	11,235	74,713	3,726	87,734	4,392	87,768	4,581	83,239	6,645	0,130	1,000
	X	79,780	7,888	75,027	15,283	81,386	14,218	85,551	7,190	87,738	6,316	0,137	1,000
<i>Cyperus</i> sp.	ALTA	55,338	6,167	68,952	23,265	80,989	26,357	98,806	0,420	98,209	2,252	0,240	1,600
	MEDIA	57,049	16,267	66,407	23,881	68,890	23,303	93,611	6,009	97,211	1,973	0,230	1,769
	BAJA	62,705	5,930	69,555	15,501	96,199	0,674	97,705	0,757	96,644	0,874	0,200	1,538
	X	58,364	9,778	68,304	18,441	82,026	21,213	96,708	3,851	97,354	1,704	0,223	1,636
<i>Baccharis glutinosa</i>	ALTA	43,852	94,071	72,200	56,932	86,807	10,322	99,247	7,163	101,691	3,896	0,270	1,800

<i>Paspalum malacophyllum</i>	MEDIA	55,072	10,497	50,234	19,158	83,232	23,828	97,295	0,988	95,994	0,997	0,240	1,846
	BAJA	72,149	5,470	78,117	5,353	87,931	5,116	85,411	13,084	87,533	7,780	0,170	1,308
	X	57,024	50,296	66,850	22,810	97,101	34,423	93,984	9,896	95,073	7,565	0,227	1,651
	ALTA	48,283	27,234	65,282	16,268	88,048	12,104	80,004	7,981	84,955	19,049	0,260	1,733
<i>Gouinia latifolia</i>	MEDIA	52,160	23,614	55,384	6,701	83,340	4,391	91,902	3,904	92,308	1,916	0,250	1,923
	BAJA	66,481	20,500	81,438	11,570	89,836	4,039	84,504	2,783	91,732	1,571	0,175	1,346
	X	55,641	22,334	67,368	15,511	87,075	7,347	85,470	6,982	89,665	10,237	0,228	1,668
	ALTA	48,156	8,028	60,903	11,630	97,953	0,186	98,534	0,420	99,231	0,466	0,280	1,867
<i>Exhalimolobos weddellii</i>	MEDIA	64,483	28,384	55,654	8,267	90,057	14,097	92,415	0,533	90,388	4,150	0,180	1,385
	BAJA	50,181	9,006	64,208	4,665	80,323	7,618	86,251	5,228	74,450	5,436	0,250	1,923
	X	54,273	17,240	60,255	8,384	89,444	11,077	92,400	5,936	88,023	11,403	0,237	1,725
	ALTA	45,059	7,849	70,457	14,938	57,013	1,203	93,942	1,780	94,848	2,180	0,275	1,833
<i>Setaria hunzikeri</i>	MEDIA	59,254	16,914	49,931	4,785	66,298	39,020	94,026	2,369	88,622	8,257	0,230	1,769
	BAJA	45,636	4,360	59,952	4,753	85,471	6,639	90,527	2,292	90,420	7,922	0,290	2,231
	X	49,983	11,836	60,113	12,090	69,594	23,452	92,832	2,549	91,297	6,452	0,265	1,944
	ALTA	50,017	7,814	59,446	10,896	97,861	1,703	94,406	5,580	98,159	1,733	0,250	1,667
<i>Setaria hunzikeri</i>	MEDIA	31,691	26,138	72,341	7,742	80,443	3,759	88,843	1,539	88,301	2,298	0,375	2,885
	BAJA	40,739	4,064	88,707	6,608	90,321	3,510	92,832	5,390	94,282	2,541	0,320	2,462
	X	40,816	15,911	73,498	14,727	89,542	8,035	92,027	4,670	93,581	4,710	0,315	2,338

<i>Setaria parviflora</i>	ALTA	31,864	8,518	81,004	6,529	86,867	7,929	88,821	13,414	93,698	1,864	0,350	2,333
	MEDIA	48,118	16,153	88,748	3,033	97,245	1,933	98,181	1,054	93,486	2,477	0,260	2,000
	BAJA	46,226	17,146	52,076	25,788	91,162	3,825	97,752	1,252	94,327	2,576	0,390	3,000
	X	42,069	14,701	73,942	21,434	91,758	6,380	94,918	8,161	93,837	2,051	0,333	2,444
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	ALTA	51,002	14,052	51,225	1,336	74,165	4,027	89,933	12,312	97,661	1,571	0,250	1,667
	MEDIA	29,017	18,080	48,429	2,086	72,292	3,696	95,691	1,864	98,550	0,396	0,500	3,846
	BAJA	60,605	1,696	69,634	1,229	77,728	5,133	96,024	0,449	96,705	0,594	0,240	1,846
	X	46,875	18,124	56,429	10,073	74,728	4,447	93,883	6,900	97,639	1,176	0,330	2,453
<i>Dysphania ambrosioides</i>	ALTA	48,714	12,810	57,579	16,130	83,358	6,872	84,299	6,832	88,856	2,377	0,250	1,667
	MEDIA	59,420	7,657	81,590	6,015	92,714	4,954	62,593	14,706	63,572	9,578	0,230	1,769
	BAJA	27,564	0,789	45,990	6,477	67,857	3,590	75,307	5,893	86,415	5,980	0,600	4,615
	X	45,233	15,904	61,720	18,217	81,310	11,806	74,066	12,791	79,615	13,385	0,360	2,684
<i>Piptochaetium</i> sp.	ALTA	57,635	7,843	72,973	8,670	92,973	1,916	96,689	1,116	87,635	9,957	0,190	1,267
	MEDIA	33,203	25,884	39,779	16,355	70,117	8,335	90,755	1,897	90,495	8,528	0,625	4,808
	BAJA	45,901	7,048	77,179	6,327	91,473	4,788	93,411	2,697	91,156	4,493	0,270	2,077
	X	45,580	17,529	63,310	20,260	84,854	12,108	93,618	3,107	89,762	7,116	0,362	2,717
<i>Schinus fasciculatus</i>	ALTA	27,879	5,178	64,788	10,238	84,695	1,273	93,327	0,145	96,604	0,338	0,380	2,533
	MEDIA	22,725	16,234	57,384	10,361	85,886	7,301	87,248	1,144	88,065	5,888	0,400	3,077
	BAJA	28,597	21,384	54,742	24,958	73,499	18,368	79,787	4,106	80,142	3,844	0,420	3,231

	X	26,400	13,950	58,972	15,136	81,360	11,537	86,787	6,248	88,271	7,952	0,400	2,947
<i>Abutilon pauciflorum</i>	ALTA	24,135	25,142	41,392	23,042	78,454	10,802	80,660	1,687	86,749	10,385	0,650	4,333
	MEDIA	36,599	29,144	47,839	30,753	60,807	35,376	83,573	2,594	73,199	6,234	0,550	4,231
	BAJA	57,920	8,101	75,157	8,456	96,119	2,210	89,970	1,823	92,075	4,959	0,230	1,769
	X	39,552	24,611	54,796	25,061	78,460	24,022	84,734	4,498	84,008	10,671	0,477	3,444
<i>Jarava ichu</i>	ALTA	33,968	8,292	41,841	6,326	95,356	4,653	99,155	0,182	99,420	0,699	0,650	4,333
	MEDIA	58,083	21,719	83,779	8,208	97,677	0,869	87,484	16,464	93,677	2,123	0,185	1,423
	BAJA	44,954	24,809	46,101	6,041	86,239	10,867	89,966	9,890	88,704	2,137	0,600	4,615
	X	45,668	19,958	57,240	20,870	93,090	7,908	92,202	10,981	93,934	4,895	0,478	3,457
<i>Bouteloua curtipendula</i>	ALTA	54,784	7,739	89,127	2,456	90,927	0,153	92,650	0,470	95,616	0,498	0,200	1,333
	MEDIA	38,832	2,561	46,850	31,680	50,787	37,402	82,021	7,408	64,501	16,923	1,000	7,692
	BAJA	57,207	10,767	91,532	4,235	90,892	0,662	88,897	2,008	89,801	5,719	0,200	1,538
	X	50,275	10,970	75,836	27,029	77,536	27,428	87,856	6,048	83,306	16,884	0,467	3,521
<i>Chromolaena hookeriana</i>	ALTA	39,484	4,068	56,849	17,020	72,808	6,752	89,955	6,427	91,260	6,951	0,380	2,533
	MEDIA	40,405	20,187	60,477	33,194	87,448	6,154	85,322	1,104	85,529	5,426	0,350	2,692
	BAJA	13,869	13,348	42,088	22,402	62,191	23,955	76,245	4,773	81,741	11,190	0,700	5,385
	X	31,253	17,908	53,138	23,334	74,149	16,881	83,841	7,267	86,177	8,244	0,477	3,537
<i>Rivina humilis</i>	ALTA	44,444	10,456	49,551	5,802	40,994	27,139	85,369	2,958	86,439	8,171	0,500	3,333
	MEDIA	28,796	20,474	37,683	13,592	68,729	21,640	70,754	17,142	59,843	17,548	0,700	5,385

<i>Iresine diffusa</i>	BAJA	15,988	12,441	54,916	19,035	62,363	4,321	88,977	1,576	73,585	12,219	0,400	3,077
	X	29,743	17,977	47,383	14,266	57,362	21,545	81,700	12,088	73,289	16,238	0,533	3,932
	ALTA	35,909	17,707	33,342	14,063	56,201	27,863	90,428	3,370	92,520	2,694	0,850	5,667
	MEDIA	25,766	21,901	44,890	25,324	64,528	33,400	81,699	6,872	66,893	9,026	0,650	5,000
	BAJA	27,536	7,073	60,350	2,228	93,355	6,189	90,156	4,266	95,707	2,344	0,400	3,077
<i>Sida rhombifolia</i>	X	29,737	15,258	46,194	18,674	71,361	27,706	87,428	6,138	85,040	14,515	0,633	4,581
	ALTA	38,118	1,991	75,372	8,181	70,084	7,886	86,524	7,997	88,963	9,504	0,310	2,067
	MEDIA	22,433	13,896	36,622	19,067	46,527	19,011	54,745	25,691	85,746	6,004	1,500	11,538
	BAJA	43,851	20,827	56,586	27,001	69,626	16,071	65,399	18,649	83,077	17,619	0,375	2,885
	X	34,801	15,808	56,194	23,906	62,079	17,509	68,889	21,544	85,929	10,757	0,728	5,497
<i>Malvastrum interruptum</i>	ALTA	30,156	1,294	36,041	2,434	54,715	3,141	59,165	2,853	86,104	17,613	0,870	5,800
	MEDIA	29,437	6,537	25,541	18,891	56,277	18,530	44,589	8,475	71,212	12,895	0,870	6,692
	BAJA	13,951	6,284	42,273	18,433	60,140	4,572	71,503	5,547	81,608	6,055	0,700	5,385
	X	24,515	9,157	34,618	15,142	57,044	9,969	58,419	12,799	79,642	13,117	0,813	5,959
	ALTA	22,459	2,792	26,480	2,015	39,452	4,941	56,423	5,276	74,756	5,731	1,700	11,333
<i>Ipomoea purpurea</i>	MEDIA	5,525	4,526	17,442	11,443	51,668	4,587	61,953	2,858	65,810	11,526	1,000	7,692
	BAJA	33,652	4,664	59,142	2,721	67,455	6,451	76,996	4,532	81,533	3,516	0,390	3,000
	X	20,545	12,763	34,355	19,913	52,858	13,023	65,124	9,957	74,033	9,548	1,030	7,342
	ALTA	21,485	4,945	29,785	5,616	34,641	3,794	50,339	6,872	51,835	2,815	2,000	13,333
	Sida dyctiocarpa												

<i>Sida spinosa</i>	MEDIA	18,533	3,500	34,267	10,130	59,733	18,558	52,333	13,460	57,267	10,797	0,760	5,846
	BAJA	9,814	15,649	44,848	31,634	86,997	2,871	89,598	2,393	92,296	1,226	0,600	4,615
	X	16,611	9,901	36,300	18,127	60,457	24,617	64,090	20,622	67,133	19,830	1,120	7,932
	ALTA	12,085	3,255	20,500	5,676	19,329	3,662	42,202	1,433	70,769	25,406	2,500	16,667
	MEDIA	34,828	21,182	36,207	28,898	59,483	10,034	79,483	5,882	78,621	3,160	0,780	6,000
<i>Amphilophium carolinae</i>	BAJA	23,084	16,804	37,094	18,380	64,739	7,454	74,941	8,347	77,057	14,158	0,700	5,385
	X	23,332	16,805	31,267	19,148	47,850	22,476	65,542	18,354	75,482	15,064	1,327	9,350
	ALTA	7,931	4,476	45,724	1,212	78,690	1,616	74,690	12,677	81,103	12,891	0,600	4,000
	MEDIA	21,930	5,435	41,690	9,265	40,834	19,009	70,417	10,246	69,674	21,727	1,300	10,000
	BAJA	4,353	4,485	38,691	1,616	17,639	7,903	4,410	1,707	41,536	19,975	4,000	30,769
	X	11,405	9,063	42,035	5,641	45,721	28,616	49,839	35,092	64,105	23,881	1,967	14,923

TABLA 3.3 B. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento en 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$), comparando las respuestas de las plántulas según el origen de las semillas (provenientes de fragmentos chicos, medianos o grandes a partir de lo cual se hipotetiza una exposición histórica al glifosato alta, media y baja, respectivamente) y el promedio general de cada especie. Los datos muestran los porcentajes de reducción del crecimiento respecto al control (plántulas de la misma especie en las que no se aplicó ningún tratamiento con glifosato) y su correspondiente desvío estándar (DE). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Las especies fueron ordenadas en orden decreciente de sensibilidad al glifosato (según IS).

REDUCCIÓN DEL CRECIMIENTO (APLICACIÓN TARDÍA)													
DOSIS DE GLIFOSATO													
Especie	Exposición al glifosato	0,25X	DE	0,5X	DE	1X	DE	2X	DE	4X	DE	RC50	IS
<i>Bidens subalternans</i>	ALTA	77,483	16,160	69,385	12,054	85,054	0,419	85,588	5,332	94,414	2,224	0,140	1,000
	MEDIA	86,309	10,330	65,263	10,195	80,012	21,023	91,007	6,020	91,412	4,069	0,130	1,000
	BAJA	80,536	3,489	90,596	1,655	85,794	5,724	92,676	0,708	95,482	0,956	0,135	1,000
		81,443	10,492	75,081	14,198	83,620	11,232	89,757	5,157	93,769	2,990	0,135	1,000
<i>Chromolaena hookeriana</i>	ALTA	23,445	14,338	64,994	9,168	68,315	11,545	48,312	29,491	62,330	17,953	0,390	2,786
	MEDIA	33,468	24,330	52,112	6,291	71,261	14,098	78,216	8,408	87,350	0,806	0,480	3,692
	BAJA	26,058	6,173	58,615	8,938	63,830	23,081	73,960	10,117	85,630	2,402	0,420	3,111
		27,657	15,139	58,574	9,055	67,802	15,057	66,829	21,377	78,436	15,122	0,430	3,196
<i>Jarava ichu</i>	ALTA	13,108	9,102	41,987	11,200	54,249	5,634	64,863	15,042	69,725	7,705	0,760	5,429

	MEDIA	78,207	2,396	77,855	3,523	82,025	1,392	86,795	4,267	89,203	3,134	0,135	1,038
	BAJA	20,676	14,485	59,564	13,436	73,599	3,330	76,087	5,124	86,587	10,768	0,470	3,481
		37,330	32,019	59,802	17,912	69,958	12,779	75,915	12,565	81,839	11,406	0,455	3,316
	ALTA	39,001	23,649	54,230	9,412	57,050	10,336	43,723	22,009	63,923	22,518	0,385	2,750
<i>Exhalimolobos weddellii</i>	MEDIA	74,425	8,273	73,893	4,370	71,386	19,532	76,840	6,287	79,464	6,035	0,135	1,038
	BAJA	34,169	19,660	31,064	4,606	55,946	3,929	66,735	2,651	73,169	4,805	0,850	6,296
		49,198	24,817	53,063	19,415	61,461	13,475	62,433	18,676	72,185	13,692	0,457	3,362
	ALTA	38,654	33,154	75,361	2,184	88,473	2,489	81,612	6,733	90,423	4,515	0,310	2,214
<i>Setaria hunzikeri</i>	MEDIA	53,647	4,238	76,429	5,381	74,469	3,112	71,295	8,824	88,750	5,847	0,240	1,846
	BAJA	15,764	3,556	33,204	17,756	57,108	3,352	75,262	0,350	81,488	3,744	0,870	6,444
		36,021	23,567	61,665	23,304	73,350	13,854	76,056	7,151	86,887	5,837	0,473	3,502
	ALTA	9,455	7,636	22,182	2,745	50,691	7,409	52,727	6,576	71,273	5,155	1,000	7,143
<i>Bouteloua curtipendula</i>	MEDIA	54,811	7,318	71,566	3,908	70,043	1,163	69,789	1,917	72,074	2,675	0,240	1,846
	BAJA	50,614	7,369	71,905	9,844	79,242	3,769	78,463	4,787	86,374	5,958	0,250	1,852
		38,293	22,642	55,218	25,374	66,659	13,300	66,993	12,085	76,574	8,453	0,497	3,614
	ALTA	25,107	3,143	45,971	8,338	52,852	9,620	69,515	11,956	80,907	8,056	0,750	5,357
<i>Paspalum malacophyllum</i>	MEDIA	65,084	4,470	65,387	2,212	69,226	3,467	84,225	4,719	92,113	3,626	0,200	1,538
	BAJA	42,749	1,309	37,265	7,520	77,952	3,693	87,646	6,908	95,666	1,551	0,670	4,963
		44,313	17,576	49,541	13,718	66,677	12,302	80,462	11,083	89,562	8,038	0,540	3,953

<i>Gouinia latifolia</i>	ALTA	24,522	13,782	34,607	17,952	75,091	14,248	82,257	11,416	87,228	5,600	0,650	4,643
	MEDIA	14,075	11,207	37,466	10,991	74,121	7,231	78,056	5,286	88,371	3,146	0,630	4,846
	BAJA	22,643	8,595	72,108	9,334	81,077	1,485	92,334	3,533	93,983	1,277	0,380	2,815
		20,413	10,983	48,060	21,433	76,763	8,662	84,216	9,114	89,861	4,531	0,553	4,101
<i>Schinus fasciculatus</i>	ALTA	26,583	3,779	55,056	8,854	54,418	8,676	38,713	19,981	62,589	6,516	0,400	2,857
	MEDIA	24,204	13,616	36,730	25,194	67,941	1,634	70,701	2,404	75,159	1,937	0,745	5,731
	BAJA	26,473	7,697	41,808	8,489	59,443	20,581	69,532	7,734	79,500	7,522	0,750	5,556
		25,753	8,129	44,531	16,231	60,600	12,666	59,648	19,053	72,416	9,140	0,632	4,714
<i>Piptochaetium</i> sp.	ALTA	28,016	6,714	39,183	8,841	64,063	6,935	79,535	4,537	87,074	1,639	0,700	5,000
	MEDIA	34,921	9,258	49,601	5,357	75,833	2,010	80,987	1,988	91,908	1,838	0,500	3,846
	BAJA	12,854	8,345	20,935	15,584	58,910	18,074	96,073	1,243	96,935	0,717	0,800	5,926
		25,264	12,069	36,573	15,663	66,269	12,294	85,532	8,332	91,972	4,459	0,667	4,924
<i>Cyperus</i> sp.	ALTA	16,025	4,724	37,251	7,010	51,977	6,686	80,711	7,382	87,901	9,904	0,900	6,429
	MEDIA	22,454	2,650	40,818	21,673	75,892	3,049	79,373	2,965	81,636	4,859	0,650	5,000
	BAJA	19,735	18,526	56,117	17,242	80,998	6,172	89,851	1,584	90,394	4,241	0,480	3,556
		19,405	10,047	44,729	16,715	69,622	14,250	83,312	6,390	86,644	7,085	0,677	4,995
<i>Sida dyctiocarpa</i>	ALTA	23,537	6,886	61,056	13,451	74,916	3,263	83,326	2,211	86,462	8,019	0,395	2,821
	MEDIA	29,686	1,715	50,134	11,440	69,244	2,925	77,632	3,309	83,382	2,119	0,750	5,769
	BAJA	19,379	5,642	59,109	16,348	70,958	2,417	83,138	2,311	86,478	5,598	0,870	6,444

		24,201	6,381	56,766	13,047	71,706	3,551	81,365	3,625	85,441	5,236	0,672	5,012
<i>Rivina humilis</i>	ALTA	49,615	32,203	63,419	18,670	62,815	2,384	69,436	4,343	85,821	6,317	0,250	1,786
	MEDIA	23,499	23,289	27,804	32,977	48,223	16,868	47,038	32,507	51,659	23,472	1,000	7,692
	BAJA	44,494	28,562	30,781	14,977	55,706	5,560	63,514	23,044	69,439	15,745	0,875	6,481
		39,203	27,248	40,668	26,606	55,581	10,964	59,996	22,420	68,973	20,704	0,708	5,320
<i>Setaria parviflora</i>	ALTA	45,293	24,732	58,017	25,389	45,059	18,089	73,069	5,895	79,385	1,034	0,320	2,286
	MEDIA	24,666	15,255	27,939	9,396	28,704	13,745	75,799	5,557	79,615	2,823	1,400	10,769
	BAJA	32,137	12,916	59,874	1,607	83,409	4,688	93,122	2,894	96,062	0,995	0,400	2,963
		34,032	18,292	48,610	20,612	52,391	26,942	80,663	10,354	85,021	8,431	0,707	5,339
<i>Abutilon pauciflorum</i>	ALTA	32,981	15,106	35,506	1,896	48,359	5,411	55,818	5,533	43,539	28,412	1,200	8,571
	MEDIA	22,214	6,695	41,994	18,649	54,082	2,093	53,218	10,287	69,953	6,321	0,770	5,923
	BAJA	48,538	6,481	81,262	5,480	80,013	6,651	82,261	4,903	93,500	4,066	0,250	1,852
		34,578	14,496	52,921	23,560	60,818	15,260	63,766	15,290	68,997	26,162	0,740	5,449
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	ALTA	33,521	29,232	29,775	25,684	46,067	16,635	52,122	35,812	51,623	32,332	1,550	11,071
	MEDIA	37,474	22,408	44,121	35,944	65,226	12,364	69,173	13,315	59,909	28,506	0,660	5,077
	BAJA	23,276	11,747	62,901	9,474	56,005	37,572	84,776	2,653	94,070	2,555	0,380	2,815
		31,423	20,345	45,599	26,783	55,766	23,004	68,690	23,806	68,534	29,082	0,863	6,321
<i>Sida rhombifolia</i>	ALTA	30,781	8,079	26,141	15,670	41,106	11,567	51,779	2,751	58,237	9,014	1,800	12,857
	MEDIA	32,102	3,057	55,585	19,712	75,902	2,646	81,135	3,258	86,335	3,116	0,400	3,077

<i>Amphilophium carolinae</i>	BAJA	27,428	1,194	45,088	18,407	83,944	2,310	88,764	0,762	90,395	2,186	0,550	4,074
		30,104	4,834	42,271	20,254	66,984	20,624	73,893	17,049	78,322	15,936	0,917	6,669
	ALTA	20,745	13,572	27,340	2,525	50,851	21,893	62,660	17,196	74,840	5,365	1,000	7,143
	MEDIA	19,695	7,374	35,007	19,833	57,287	10,411	63,811	10,005	81,241	8,276	0,875	6,731
	BAJA	11,462	9,434	30,431	5,501	51,270	8,207	60,964	4,886	60,815	11,040	1,000	7,407
<i>Malvastrum interruptum</i>		17,300	10,064	30,926	10,893	53,136	13,172	62,478	10,318	72,299	11,690	0,958	7,094
	ALTA	19,027	5,401	34,135	3,489	60,091	10,176	85,271	2,254	88,186	4,858	0,760	5,429
	MEDIA	20,202	9,905	44,388	37,596	51,666	2,034	53,987	10,566	87,179	6,533	0,850	6,538
	BAJA	23,920	9,396	31,161	13,051	39,779	18,879	71,003	4,722	86,173	2,239	1,300	9,630
		21,050	7,667	36,561	20,859	50,512	13,933	70,087	14,790	87,179	4,311	0,970	7,199
<i>Dysphania ambrosioides</i>	ALTA	31,478	7,759	3,906	0,994	19,486	18,947	53,168	7,371	60,666	16,546	1,900	13,571
	MEDIA	36,600	21,613	13,731	16,218	34,443	15,750	87,254	10,022	93,375	3,803	1,250	9,615
	BAJA	23,787	13,087	61,100	18,518	50,770	28,360	75,584	2,944	82,624	2,298	0,390	2,889
		30,622	14,348	26,246	29,209	34,900	23,161	72,002	16,307	78,888	16,788	1,180	8,692
	ALTA	28,631	5,115	43,100	11,045	58,991	19,509	63,814	9,482	68,219	11,620	0,700	5,000
<i>Baccharis glutinosa</i>	MEDIA	11,083	4,191	24,423	9,170	40,754	4,025	56,429	2,951	58,019	6,777	1,500	11,538
	BAJA	20,419	7,363	24,772	10,202	46,911	3,034	51,660	15,004	65,146	1,873	1,500	11,111
		20,044	9,072	30,765	12,773	48,885	12,886	57,301	10,443	63,795	8,164	1,233	9,217
	ALTA	26,683	16,073	29,688	23,420	45,973	1,269	72,455	19,184	70,060	13,302	1,200	8,571
<i>Iresine diffusa</i>	ALTA												

<i>Sida spinosa</i>	MEDIA	17,314	4,489	30,176	7,733	30,596	2,925	44,175	24,352	65,335	4,213	2,250	17,308
	BAJA	13,488	10,889	44,497	10,783	50,645	17,091	82,631	3,649	88,056	3,328	0,990	7,333
		19,162	11,569	34,787	15,304	42,405	12,574	66,420	23,267	74,484	12,619	1,480	11,071
	ALTA	6,272	0,951	8,508	2,064	10,686	2,505	45,218	11,677	65,787	8,544	2,200	15,714
<i>Ipomoea purpurea</i>	MEDIA	11,783	3,910	24,904	6,762	40,745	3,382	54,805	7,932	71,562	7,179	1,600	12,308
	BAJA	21,722	9,707	11,261	3,453	30,488	21,587	46,076	21,244	66,855	5,012	2,100	15,556
		13,259	8,578	14,891	8,561	27,306	17,206	48,700	13,555	68,068	6,670	1,967	14,526
	ALTA	10,131	4,977	23,319	6,242	28,041	1,392	31,570	5,525	51,969	14,357	3,900	27,857
	MEDIA	10,444	1,581	37,037	26,138	54,177	16,436	61,465	7,604	69,996	1,902	0,800	6,154
	BAJA	4,657	1,271	21,219	16,411	20,134	10,714	49,332	5,184	64,887	6,999	2,000	14,815
		8,410	3,894	27,192	17,413	34,118	18,297	47,456	14,084	62,284	11,377	2,233	16,275

1.2 Sensibilidad al glifosato

La especie más sensible al glifosato en ambos momentos de aplicación (aplicación temprana y tardía) fue *Bidens subalternans*, con el menor valor de RC_{50} 0,137X y 0,135X respectivamente (Tablas 3.3 A y B). Estos valores indican que es necesario una dosis de 0,41 l/ha del herbicida, para provocar una reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas de esta especie, independientemente del estadio de crecimiento de las mismas. Siendo *Bidens subalternans* la especie más sensible, se utilizó su RC_{50} como referencia para calcular el Índice de sensibilidad al glifosato (IS) de cada especie. En las 24 especies estudiadas, se observó un gradiente de sensibilidad a los efectos del glifosato (Tabla 3.3 A y B).

La RC_{50} registrada para las 24 especies, fue significativamente superior en las plántulas tratadas 10 semanas después de la emergencia (aplicación tardía) que en aquellas en las que el glifosato se aplicó 5 semanas después de la emergencia ($F_{(1)}=4,04$; $p=0,05$; Figura 3.5).

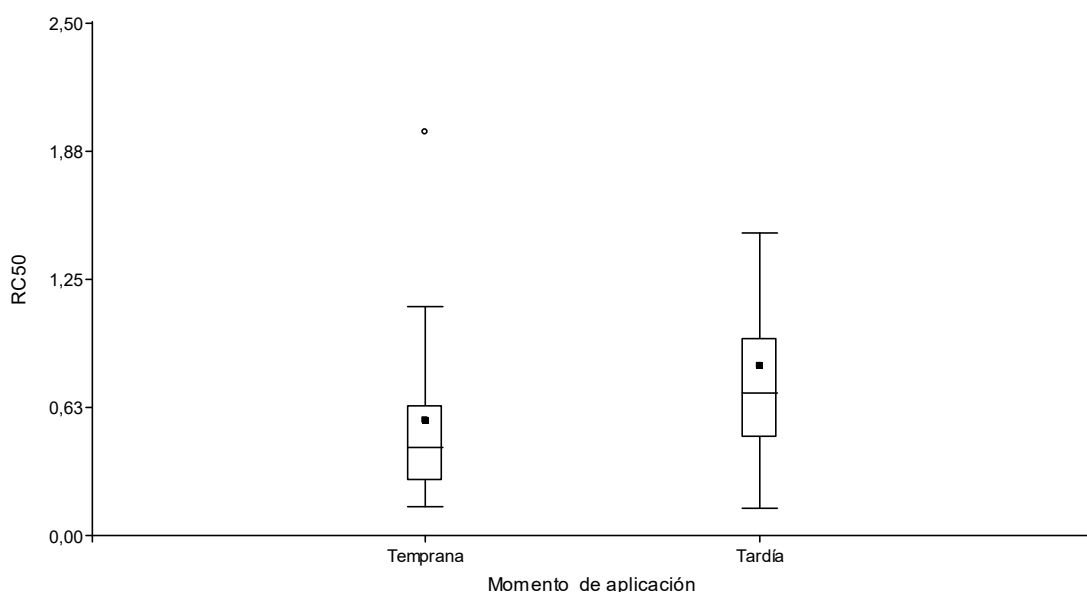


Figura 3.5. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en dos estadios de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Se encontraron diferencias significativas ($F_{(1)}=4,04$; $p=0,05$).

Se compararon los valores de RC_{50} obtenidos para las especies tratadas en diferentes etapas de crecimiento (temprana y tardía), considerando los diferentes niveles crecientes de exposición al glifosato de las semillas (provenientes de fragmentos grandes, medianos y chicos, respectivamente). La RC_{50} fue significativamente más alta en la aplicación tardía ($F_{(1)}=6,62$; $p=0,011$). No se encontraron diferencias significativas en la RC_{50} entre plántulas cuyas semillas se originaron en fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición al glifosato ($F_{(4)}=0,22$; $p=0,685$) (Tabla 3.4: Figura 3.6).

Tabla 3.4 Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: ANOVA bifactorial anidado comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blancas en dos estadios de crecimiento (momento de aplicación): cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. El factor nivel de exposición al glifosato estuvo anidado dentro del factor momento de aplicación. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, SC “suma de cuadrados”, CM “cuadrados medios”, F “estadístico F”, *** $=<0.001$

	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	5	3,48	0,7	1,78	0,121
Momento	1	2,59	2,59	6,62	0,0111
Momento>Exposición	4	0,89	0,22	0,57	0,6854
Error	138	53,92	0,39		



Figura 3.6. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en dos estadios de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

Las especies mostraron diferentes respuestas a las distintas dosis de aplicación de glifosato y pueden clasificarse como muy sensibles al glifosato (valores de IS menores a 5, aún con dosis inferiores a la utilizada habitualmente en el campo) y otras pueden considerarse como tolerantes al glifosato (con valores de IS superiores a 5). Por lo tanto, dado el gradiente de sensibilidad registrado en las especies estudiadas y de acuerdo a los valores del IS obtenido para cada especie, se determinaron dos grupos de especies para seguir analizando en las respuestas en relación a los factores considerados: Especies sensibles (valores de IS inferiores a 5) y Especies tolerantes al glifosato (valores de IS superiores a 5), para cada uno de los momentos de aplicación (temprana y tardía). De esta manera, se pudieron ver más claramente las respuestas diferenciales de cada grupo de especies, según si la aplicación de glifosato se realizó en un estadio temprano o tardío de crecimiento. Se realizaron GLM para evaluar los distintos factores que afectan la variación de la RC_{50} entre

las especies. En la **aplicación temprana**, solo se encontraron diferencias significativas entre grupo de especies sensibles y tolerantes, no así según el nivel de exposición al glifosato de donde provenían las semillas que originaron las plántulas (Tabla 3.5; Figura 3.7).

Al probar el ajuste de los modelos, el que resulto seleccionado, fue el que consideraba solo como efecto fijo a la sensibilidad de las especies al glifosato, es decir, especies sensibles y tolerantes, siendo la RC_{50} significativamente mayor en el grupo de especies tolerantes con respecto a las especies sensibles (Tabla 3.6).

Tabla 3.5 Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio temprano de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5; confrontar Tabla 3.3). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden a la Prueba de hipótesis tipo III del análisis de GLM realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, F “estadístico F”, *** ≤ 0.001

		gl	denDF	F	p-valor
1	Exposición	2	66	0,36	0,7015
2	Especies	1	66	35,59	<0,0001
3	Exposición: Especies	2	66	0,51	0,6003

Tabla 3.6 Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: Los datos corresponden al análisis GLM comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio temprano de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana), cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5; confrontar Tabla 3.3). Se muestra el modelo que resulto seleccionado según los criterios de AIC y BIC más bajos. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, F “estadístico F”, *** ≤ 0.001

Medidas de ajuste del modelo					
N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
72	110,35	117,09	-52,17	0,49	0,35
	gl	denDF	F-valor	p-valor	
Especies	1	70	37,04	<0,0001	
Efectos fijos					
	Valor	Error estándar	t-valor	p-valor	
(Intercepto)	0,36	0,07	5,45	<0,0001	
Tolerantes	0,8	0,13	6,09	<0,0001	

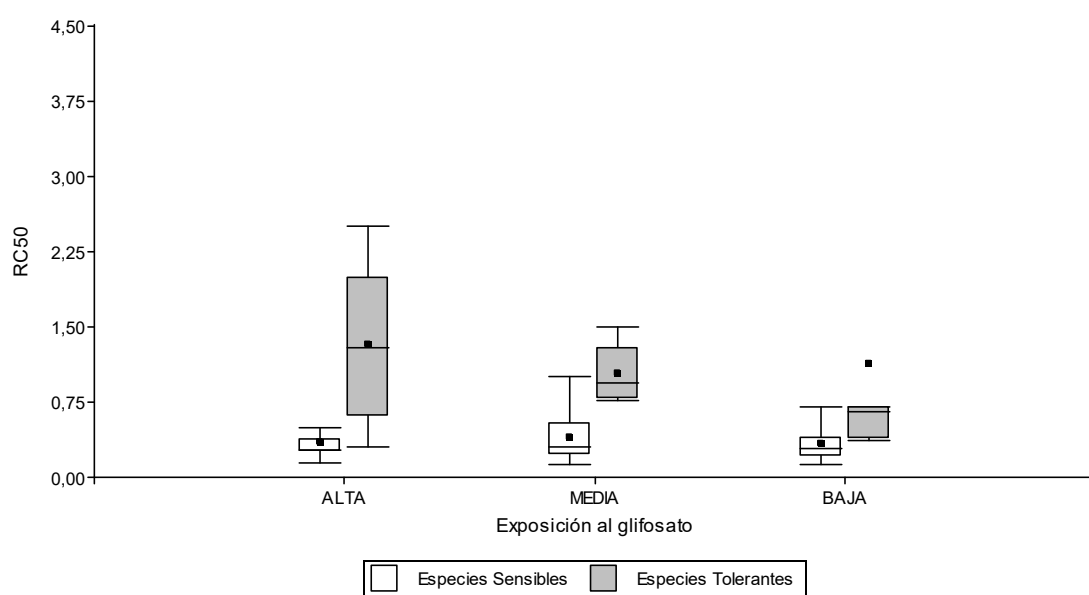


Figura 3.7. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa cuantitativa comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blancas que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio temprano de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5; confrontar Tabla 3.3). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

Cuando se realizó la **aplicación tardía** de glifosato se observaron las mismas tendencias en las respuestas de las especies sensibles y tolerantes al glifosato, como fueran descritas para la aplicación temprana. Se realizaron GLM para evaluar la variación de la RC_{50} entre las especies en relación a los distintos factores considerados, y solo se encontraron diferencias significativas entre grupo de especies sensibles y tolerantes, no así según el nivel de exposición al glifosato de donde provenían las plántulas (Tabla 3.7; Figura 3.8). Al probar el ajuste de los modelos, el que resulto seleccionado, fue el que consideraba solo como efecto fijo a la sensibilidad de las especies al glifosato, es decir, especies sensibles y tolerantes, siendo la RC_{50} significativamente mayor en el grupo de especies tolerantes con respecto a las especies sensibles (Tabla 3.8).

Tabla 3.7. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio tardío de crecimiento: diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5; confrontar Tabla 3.3). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden a la Prueba de hipótesis tipo III del análisis de GLM realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, F “estadístico F”, *** =<0.001

	gl	F	p-valor
Especies	1	19,86	<0,0001
Exposición	2	1,27	0,2888
Especies: Exposición	2	0,69	0,5053

Tabla 3.8. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: Los datos corresponden al análisis GLM comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio tardío de crecimiento: diez semanas post emergencia (aplicación tardía), cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS

mayor a 5; confrontar Tabla 3.3). Se muestra el modelo que resulto seleccionado según los criterios de AIC y BIC más bajos.

Medidas de ajuste del modelo					
N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
72	134,02	140,77	-64,01	0,57	0,22
		gl	denDF	F-valor	p-valor
1	Especies	1	70	19,89	<0,0001
Efectos fijos					
		Valor	Error estándar	t-valor	p-valor
(Intercepto)		0,5	0,1	5,02	<0,0001
Tolerantes		0,61	0,14	4,46	<0,0001

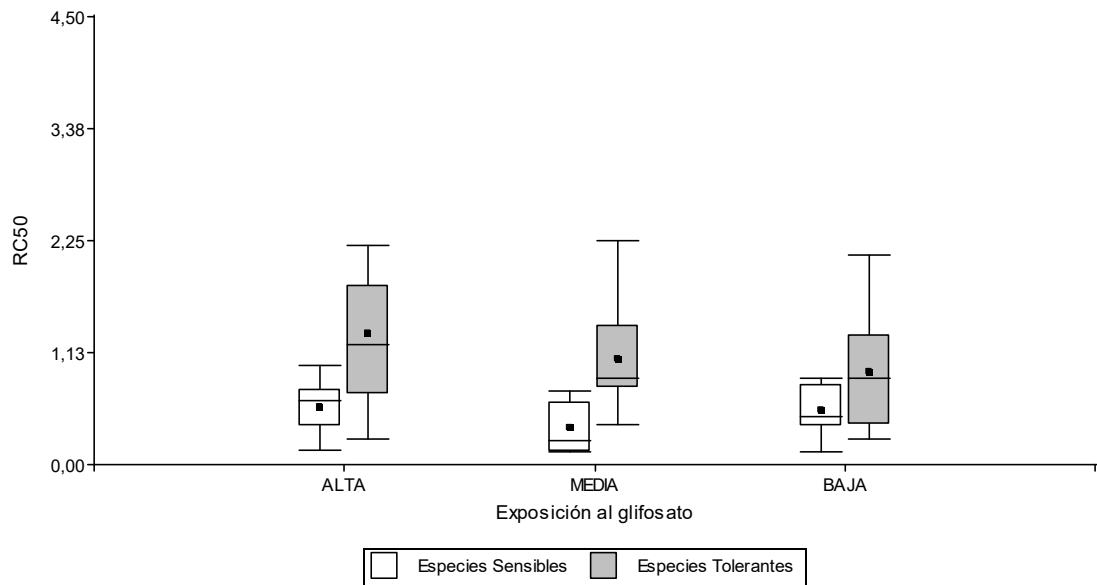


Figura 3.8. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa cuantitativa comparando la reducción del 50% del crecimiento en la biomasa de las plántulas (RC_{50}) en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio tardío de crecimiento: diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores de RC_{50} fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cuantitativo

realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

1.3 Especies sensibles al glifosato

Con el objetivo de evaluar las variaciones de la reducción de crecimiento del grupo de especies sensibles según el nivel histórico de exposición al glifosato a las cuales estuvieron expuestas sus semillas, se consideraron las respuestas cuando fueron pulverizadas con las tres dosis del herbicida más bajas (de las cinco utilizadas): 0,25X; 0,5X y 1X. Las dosis más bajas (0,25X y 0,5X) se seleccionaron para los análisis que se presentan a continuación, ya que fueron las dosis a las cuales se registraron aumentos sucesivos en la reducción de crecimiento en todas las especies tratadas, y podrían representar las dosis que llegan a las comunidades no-blanco por deriva de la aplicación de glifosato. Se seleccionó además la dosis de 1X, ya que representa la dosis media utilizada en el campo, y a la cual aún se observaron incrementos en los valores de reducción de crecimiento en la mayoría de las especies. Por lo tanto, es probable que al evaluar los efectos de las especies pulverizadas con estas tres dosis, en diferentes etapas de crecimiento, y de acuerdo al origen de sus semillas, se observen respuestas interesantes que se analizarán por separado a continuación.

Las dosis más elevadas (2X y 4X) no fueron consideradas en los próximos análisis, ya que se observó que en la mayoría de las especies la reducción del crecimiento fue máxima. Para más detalle de la respuesta de las especies en cada una de las dosis empleadas, se puede consultar el Apéndice I.

1.3.1 Aplicación temprana a las especies sensibles

En esta categoría quedaron agrupadas las siguientes especies, por presentar un IS en aplicación temprana del herbicida, menor a 5: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Exhalimolobos wedeellii*, *Cyperus* sp., *Jarava ichu*, *Setaria parviflora*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Abutilon pauciflorum*, *Paspalum malacophyllum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Schinus fasciculatus*, *Iresine diffusa*, *Chromolaena hookeriana*, *Dysphania ambrosioides*, *Piptochaetium* sp.

DOSIS 0,25X

Analizando la respuesta promedio de las especies sensibles a la dosis más baja de glifosato no se observaron diferencias significativas en la reducción de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos chicos, medianos y grandes (i.e., con alta, media y baja exposición histórica al glifosato; ver detalles en Materiales y Métodos) cuando fueron tratadas en un estadio temprano de crecimiento con una dosis de glifosato de 0,25X ($F_{(2)}=0,07$; $p=0,933$; Figura 3.9).

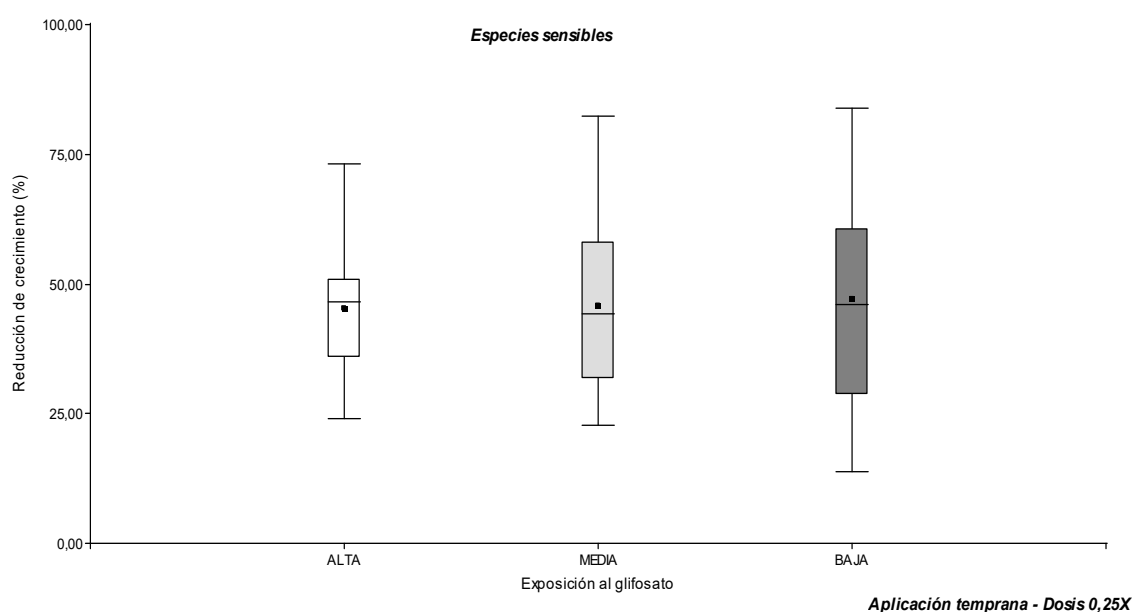


Figura 3.9. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). No se encontraron diferencias significativas ($p=0,93$).

Al observar las respuestas de las especies sensibles individualmente (Figura 3.10), se pudo observar que a valores bajos del Índice de Sensibilidad (IS) la reducción del crecimiento (RC) fue muy elevada, principalmente en las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con baja exposición al glifosato (Figura 3.10). A medida que el IS era mayor, es decir, para las especies menos sensibles (IS mayor a 2), la RC fue más baja en las plántulas

originadas en sitios con baja exposición al herbicida ($r^2=0,5$; $p=0,001$), con respecto a sitios con una exposición histórica alta ($r^2=0,39$; $p<0,0001$; Figura 3.10).

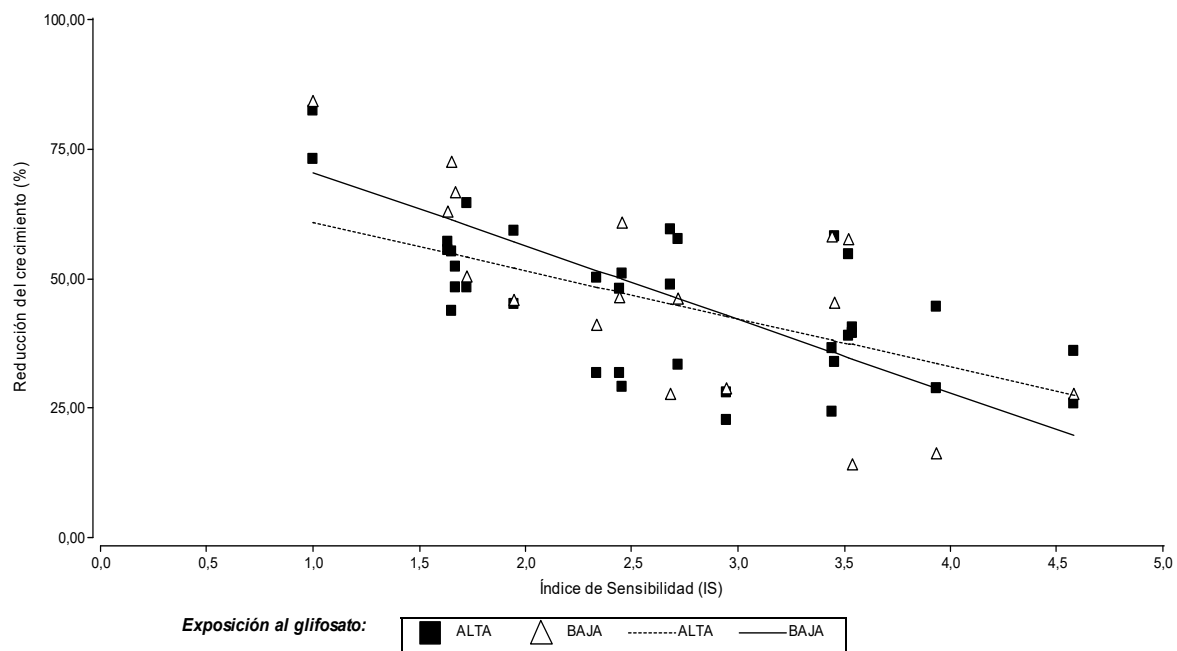


Figura 3.10. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$), según los valores de Índice de Sensibilidad (IS) calculado para el grupo de especies consideradas en este grupo: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp, *Jarava ichu*, *Setaria parviflora*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Abutilon pauciflorum*, *Paspalum malacophyllum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Schinus fasciculatus*, *Iresine diffusa*, *Chromolaena hookeriana*, *Dysphania ambrosioides*, *Piptochaetium* sp. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2=0,39$; $p<0,0001$) y baja ($r^2=0,5$; $p=0,001$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

DOSIS 0,5X

Al tratar a las plántulas con la mitad de la dosis habitualmente utilizada en el campo (0,5X) en un estadio temprano de crecimiento, no se observaron diferencias significativas en la reducción de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato ($F_{(2)}=0,8$; $p=0,457$; Figura 3.11).

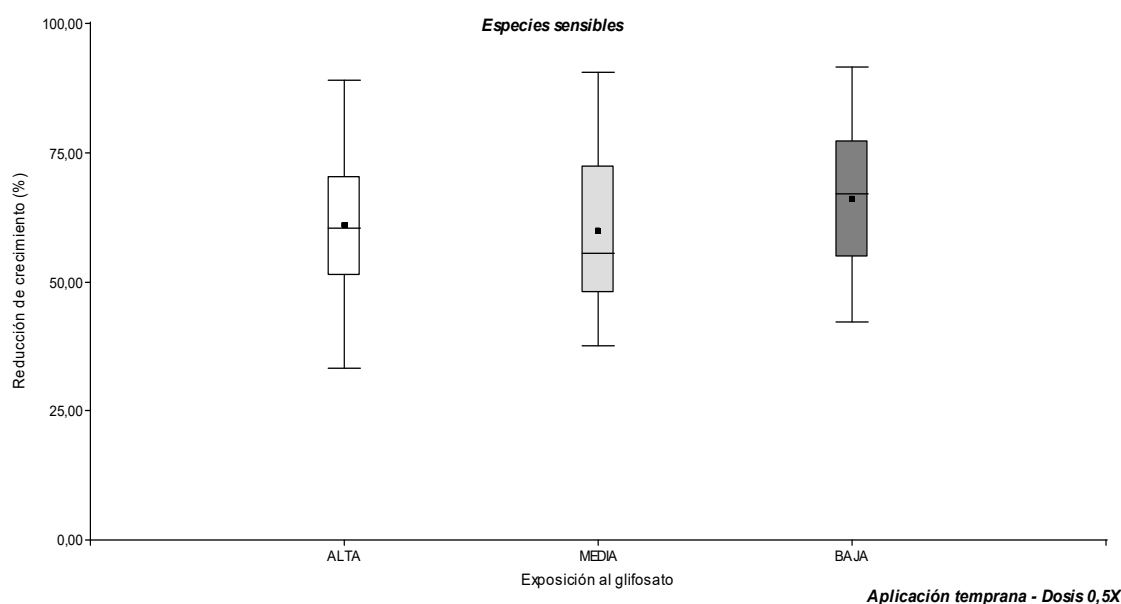


Figura 3.11. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). No se encontraron diferencias significativas.

Al observar las respuestas de las especies sensibles (Figura 3.12) luego de ser pulverizadas en un estadio temprano de crecimiento (5 semanas post-emergencia), se pudo observar que a valores bajos del IS la reducción del crecimiento fue muy elevada, principalmente en las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con baja exposición al glifosato ($r^2=0,11$; $p=0,176$). A medida que el IS se incrementaba las plántulas

provenientes de fragmentos con alta exposición al glifosato sufrieron una RC menor respecto a las provenientes de sitios con baja exposición histórica al herbicida ($r^2 = 0,17$; $p = 0,0138$).

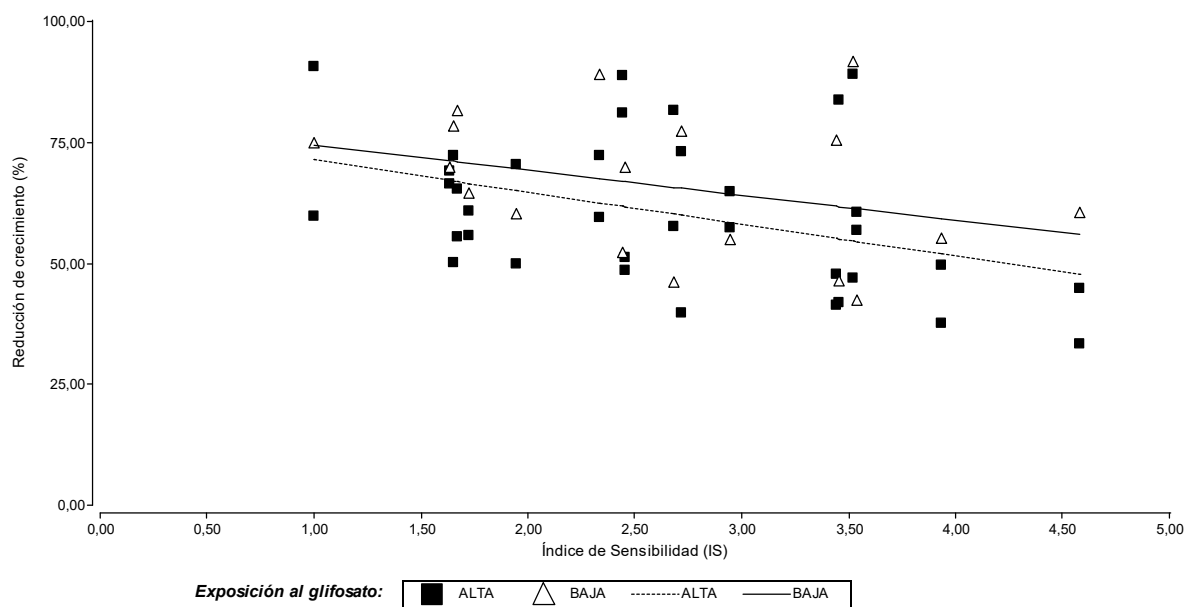


Figura 3.12. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$), según los valores de Índice de Sensibilidad (IS) calculado para el grupo de especies consideradas en este grupo: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp, *Jarava ichu*, *Setaria parviflora*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Abutilon pauciflorum*, *Paspalum malacophyllum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Schinus fasciculatus*, *Iresine diffusa*, *Chromolaena hookeriana*, *Dysphania ambrosioides*, *Piptochaetium* sp. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2 = 0,17$; $p = 0,0138$) y baja exposición al glifosato ($r^2 = 0,11$; $p = 0,176$). Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

DOSIS 1X

Como se registró ya en las dosis inferiores, al tratar las especies con la dosis de campo 1X tampoco se observaron diferencias significativas en la reducción promedio de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas en un estadio temprano de crecimiento ($F_{(2)} = 0,82$; $p = 0,446$; Figura 3.13).

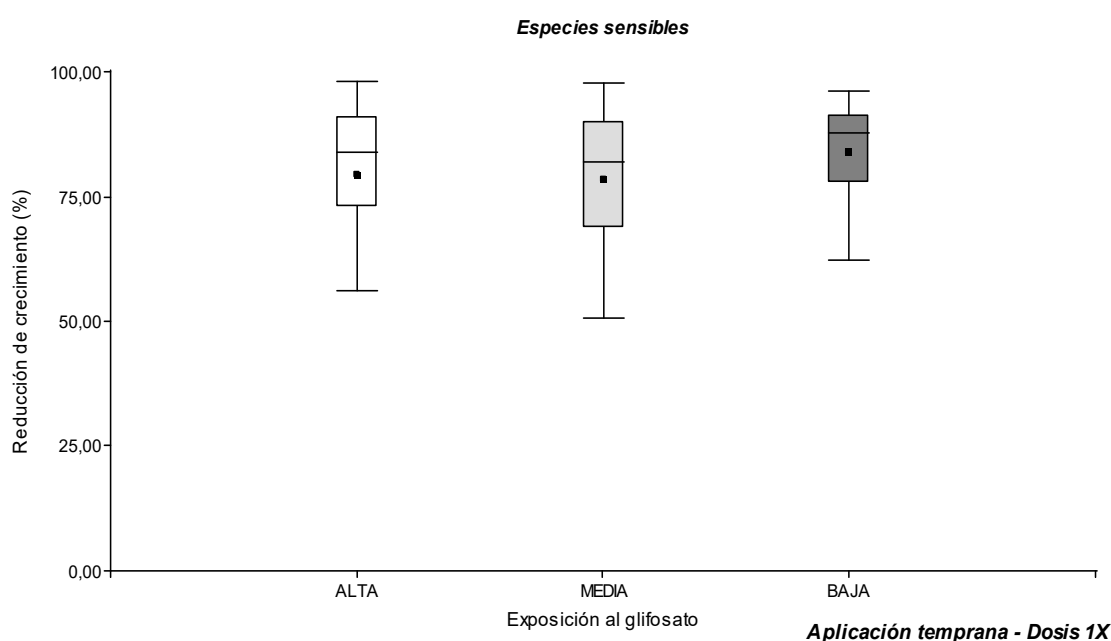


Figura 3.13. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). No se encontraron diferencias significativas.

Al observar las respuestas de las especies a la dosis utilizada en el campo (Figura 3.14), se pudo observar una tendencia similar a lo registrado con las dosis más bajas, ya que

la RC fue menor a medida que los valores del IS crecían, encontrándose una mayor reducción del crecimiento en las plántulas cuando sus semillas provenían de fragmentos de bosque con baja exposición al glifosato ($r^2 = 0,06$; $p = 0,333$), respecto a aquellas plántulas originadas a partir de semillas de sitios con alta exposición al glifosato ($r^2 = 0,10$; $p = 0,055$), aunque esta tendencia según el origen de las semillas fue menos marcada respecto a las otras dosis probadas ya que la reducción del crecimiento fue muy importante para casi todas las especies.

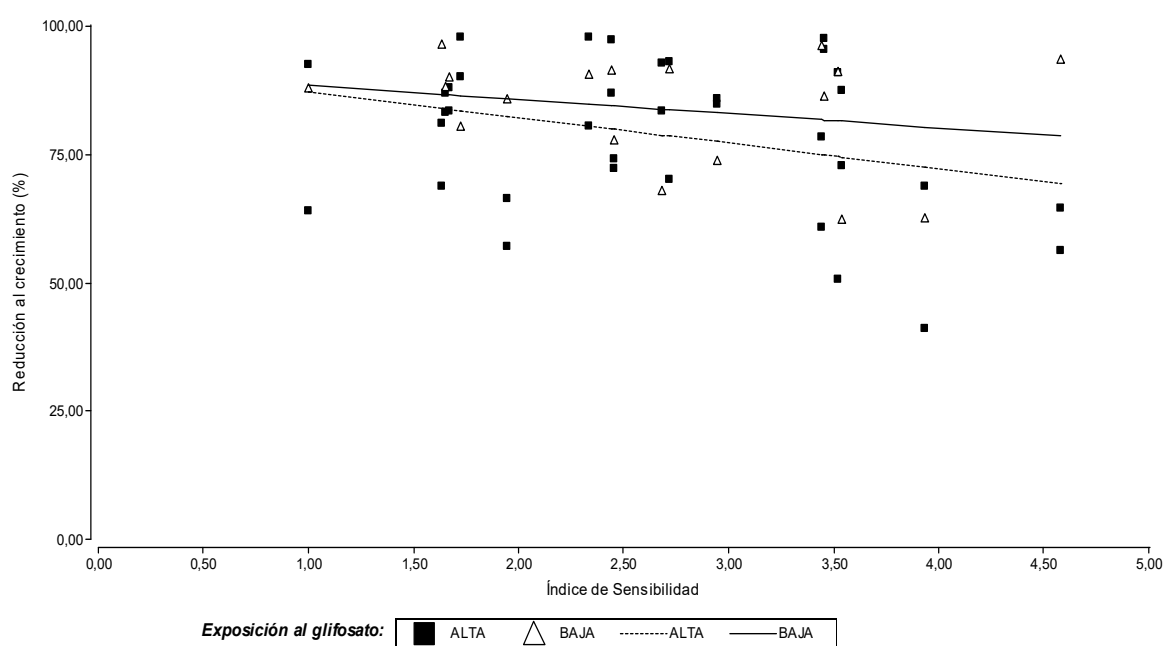


Figura 3.14. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3$ l/ha), según los valores de Índice de Sensibilidad (IS) calculado para el grupo de especies consideradas en este grupo: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp, *Jarava ichu*, *Setaria parviflora*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Abutilon pauciflorum*, *Paspalum malacophyllum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Schinus fasciculatus*, *Iresine diffusa*, *Chromolaena hookeriana*, *Dysphania ambrosioides*, *Piptochaetium* sp. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2 = 0,10$; $p = 0,055$) y baja ($r^2 = 0,06$;

p= 0,333) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

1.3.2 Aplicación tardía a las especies sensibles

En esta categoría quedaron agrupadas las siguientes especies, por presentar un IS en aplicación temprana del herbicida, menor a 5: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp., *Jarava ichu*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Paspalum malacophyllum*, *Schinus fasciculatus*, *Chromolaena hookeriana*, *Piptochaetium* sp.

DOSIS 0,25X

Analizando, las respuestas de las especies según el momento de aplicación tardío, no se observaron diferencias significativas en la reducción de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($F_{(2)}=2,87$; p= 0,072; Figura 3.15).

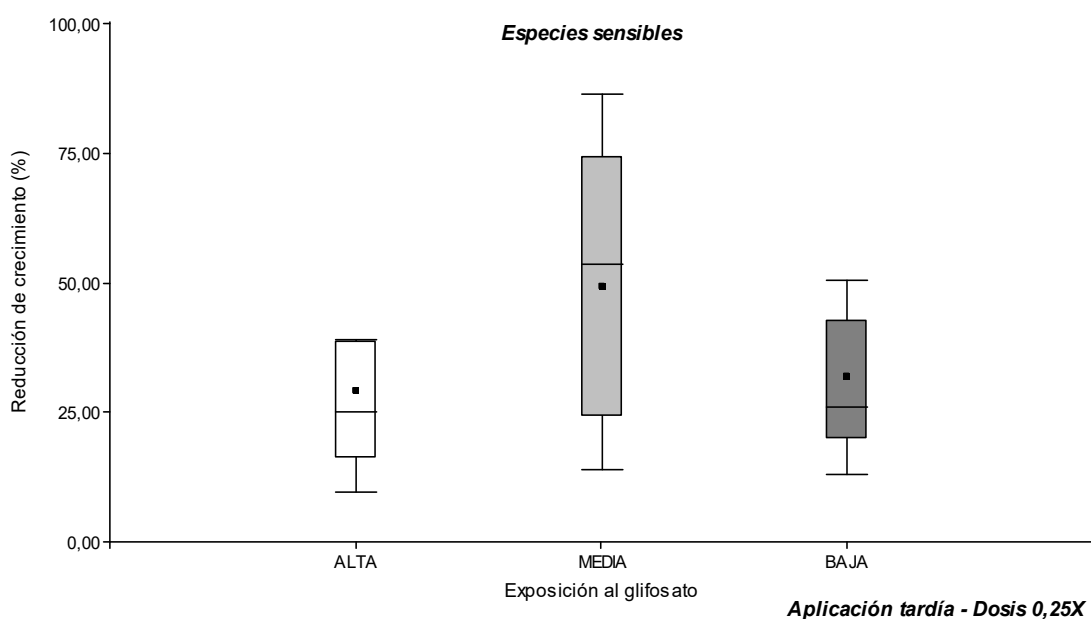


Figura 3.15. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). No se encontraron diferencias significativas.

Al observar las respuestas de las especies sensibles individualmente (Figura 3.16), luego de ser pulverizadas en un estadio mayor de crecimiento (10 semanas post-emergencia), se pudo observar que a medida que el IS se incrementaba, la reducción del crecimiento fue más elevada en las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta exposición al glifosato ($r^2 = 0,42$; $p = 0,001$) en comparación a las plántulas originadas en sitios con baja exposición al herbicida ($r^2 = 0,60$; $p = 0,005$) (Figura 3.16).

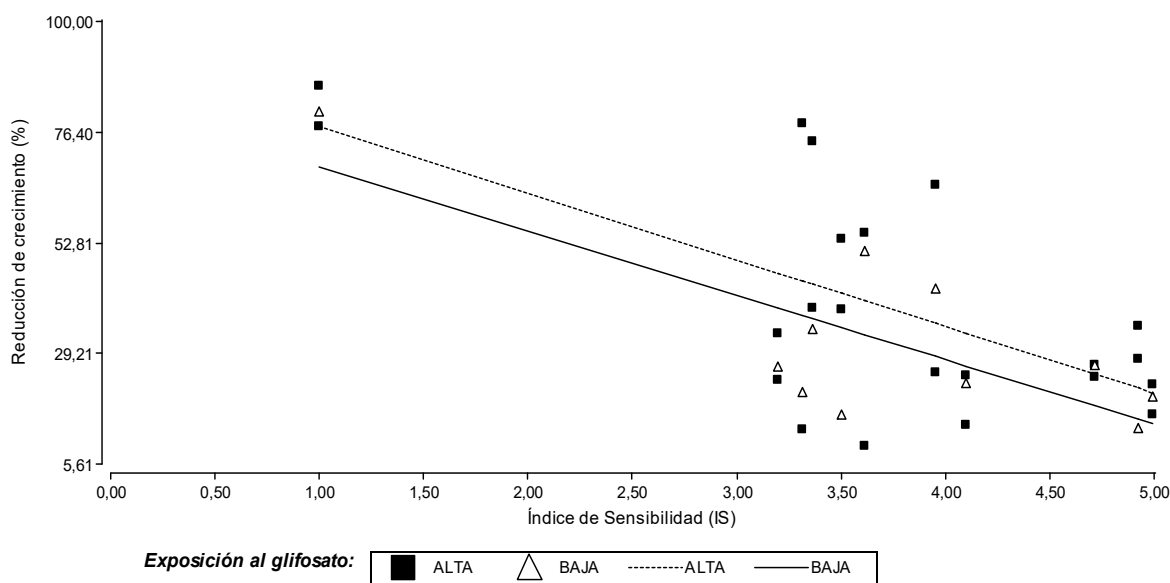


Figura 3.16. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$), según los valores de Índice de Sensibilidad (IS) calculado para el grupo de especies consideradas en este grupo: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp., *Jarava ichu*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Paspalum malacophyllum*, *Schinus fasciculatus*, *Chromolaena hookeriana*,

Piptochaetium sp. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2= 0,42$; $p= 0,001$) y baja ($r^2= 0,60$; $p= 0,005$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

DOSIS 0,5X

Las plántulas tratadas en un estadio tardío de crecimiento con una dosis de 0,5X, no mostraron respuestas significativamente diferente en la reducción de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato ($F_{(2)}=0,84$; $p= 0,439$; Figura 3.17).

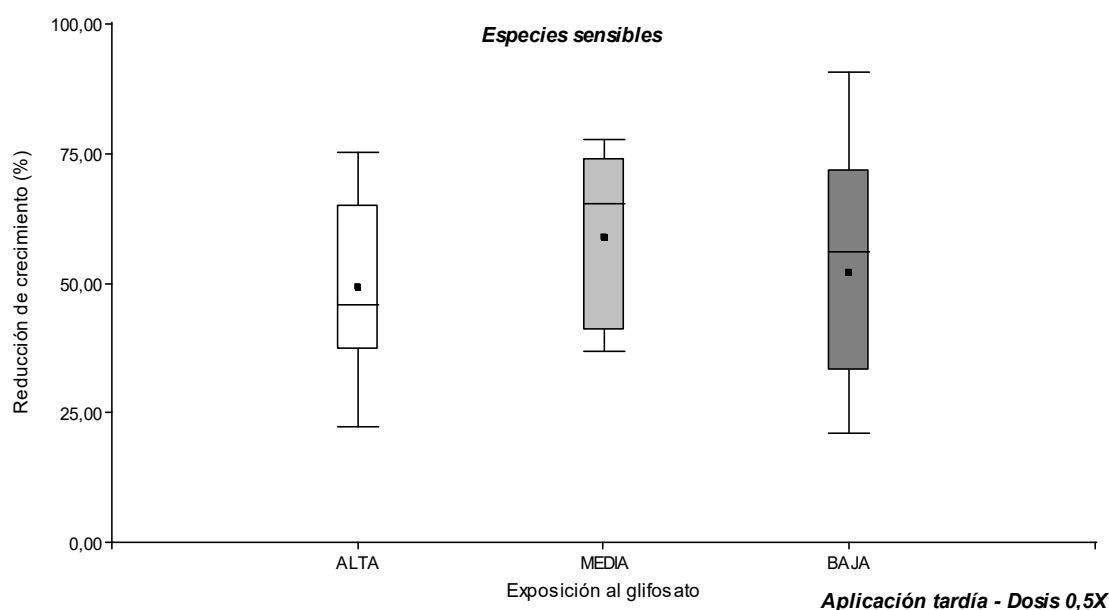


Figura 3.17. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blancas (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las

plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). No se encontraron diferencias significativas.

En el gráfico de dispersión (Figura 3.18) se puede observar la respuesta de las especies sensibles luego de ser pulverizadas con una dosis de glifosato de 0,5X en una etapa tardía de crecimiento. Se encontró aquí también, un patrón interesante en la respuesta de las especies sensibles según el origen de sus semillas: la RC de las plántulas provenientes de sitios con baja exposición histórica al glifosato fue más baja a índices altos de sensibilidad ($r^2 = 0,36$; $p = 0,052$), respecto a las plántulas provenientes de sitios muy expuestos al herbicida ($r^2 = 0,25$; $p = 0,017$).

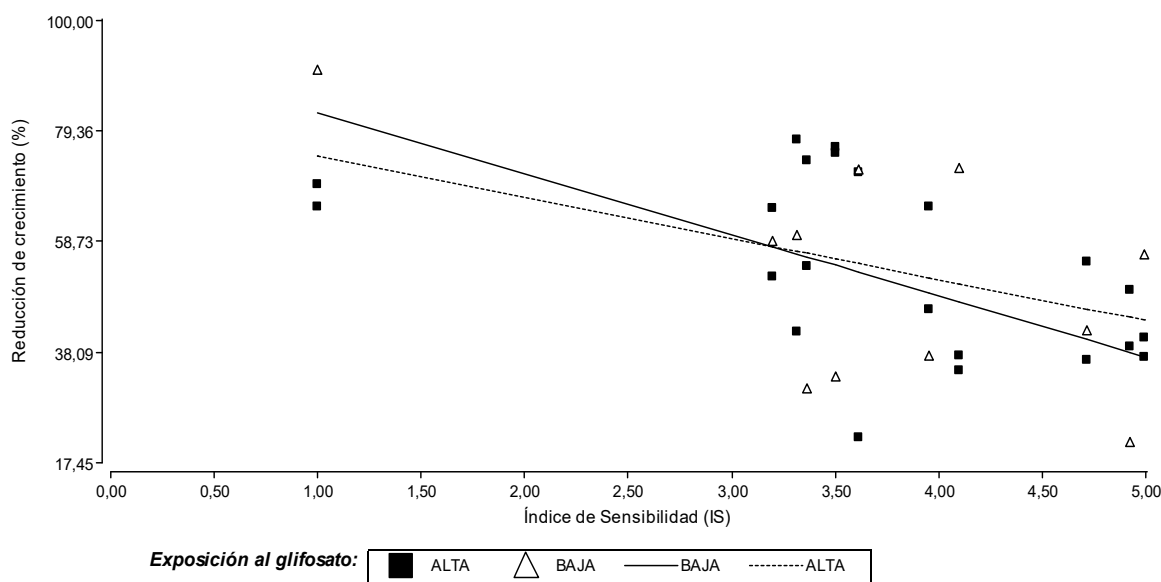


Figura 3.18. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3$ l/ha), según los valores de Índice de Sensibilidad (IS) calculado para el grupo de especies consideradas en este grupo: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp., *Jarava ichu*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Paspalum malacophyllum*, *Schinus fasciculatus*, *Chromolaena hookeriana*, *Piptochaetium* sp. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de

fragmentos con alta ($r^2 = 0,25$; $p = 0,017$) y baja ($r^2 = 0,36$; $p = 0,052$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

DOSIS 1X

Como se registró ya en las dosis inferiores, con la dosis de campo 1X tampoco se observaron diferencias significativas en la reducción de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas en un estadio tardío de crecimiento ($F_{(2)} = 2,54$; $p = 0,096$; Figura 3.19).

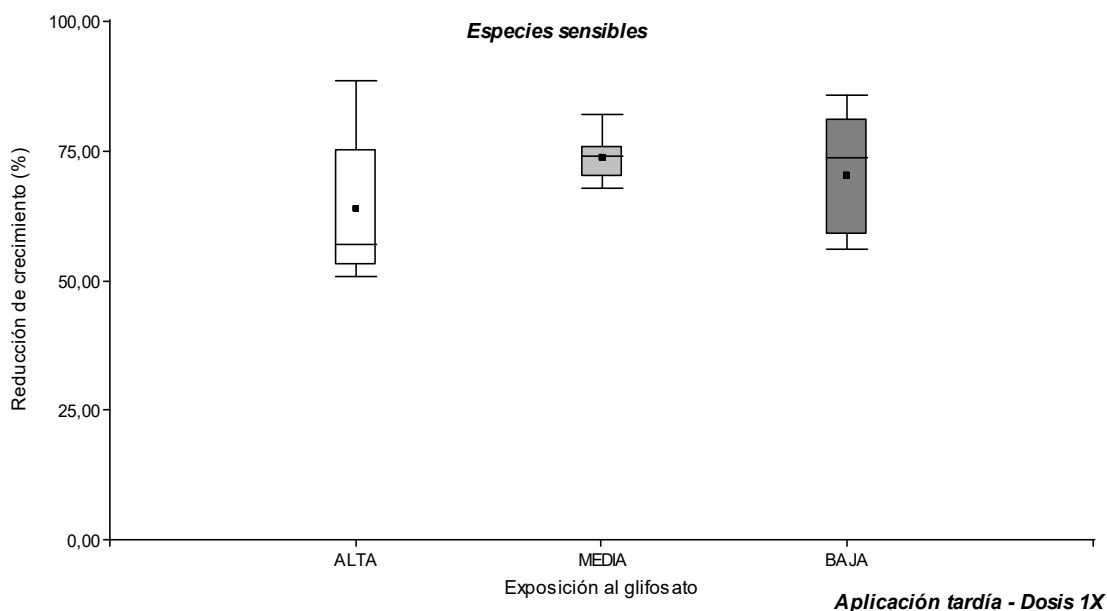


Figura 3.19. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). No se encontraron diferencias significativas.

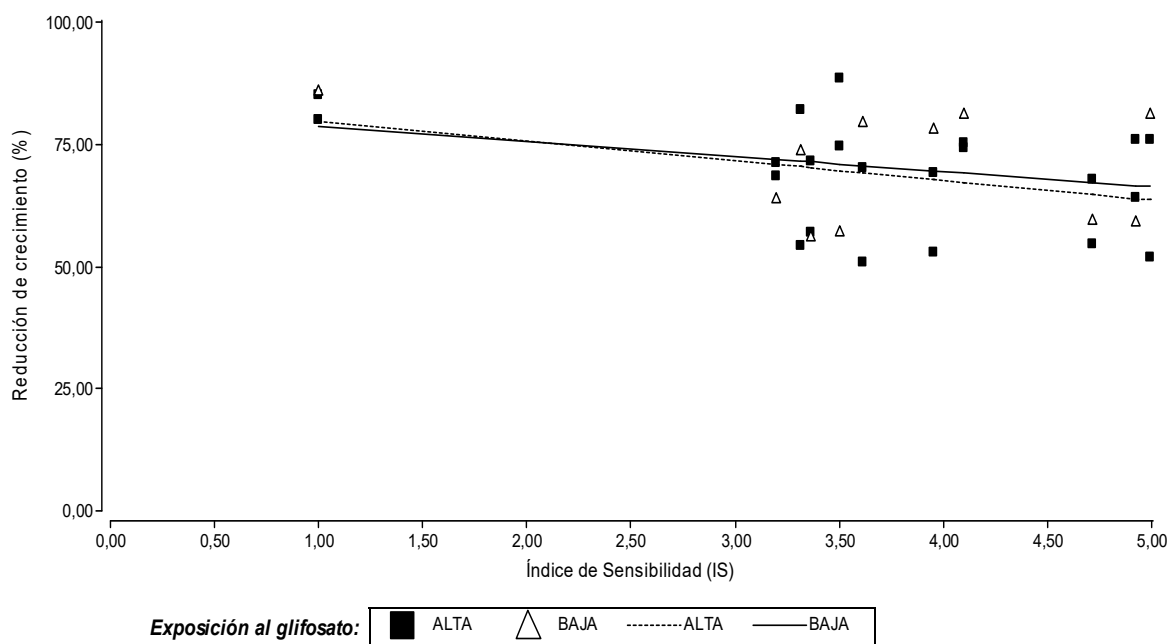


Figura 3.20. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies sensibles de plantas nativas no-blanco (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$), según los valores de Índice de Sensibilidad (IS) calculado para el grupo de especies consideradas en este grupo: *Bidens subalternans*, *Bouteloua curtipendula*, *Exhalimolobos weddellii*, *Cyperus* sp., *Jarava ichu*, *Gouinia latifolia*, *Setaria hunzikeri*, *Paspalum malacophyllum*, *Schinus fasciculatus*, *Chromolaena hookeriana*, *Piptochaetium* sp. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta sensibilidad ($r^2 = 0,15$; $p = 0,07$) y baja sensibilidad ($r^2 = 0,09$; $p = 0,367$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

1.4 Especies tolerantes al glifosato

Con el fin de evaluar las variaciones de la reducción de crecimiento del grupo de especies tolerantes según el nivel histórico de exposición al glifosato a las cuales estuvieron expuestas sus semillas, se consideró la respuesta cuando fueron pulverizadas con tres dosis del herbicida (de las cinco utilizadas): 0,25X; 0,5X y 1X.

1.4.1 Aplicación temprana a las especies tolerantes

En esta categoría quedaron agrupadas las siguientes especies, por presentar un IS en aplicación temprana del herbicida, mayor a 5: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*.

DOSIS 0,25X

A la dosis de 0,25X, la reducción de crecimiento no mostro diferencias significativas entre las plántulas de las especies tolerantes según las semillas provenían de fragmentos de bosque con baja, media y alta exposición al glifosato, pulverizadas en un estadio temprano de crecimiento herbicida ($F_{(2)}=0,01$; $p=0,994$; Figura 3.21).

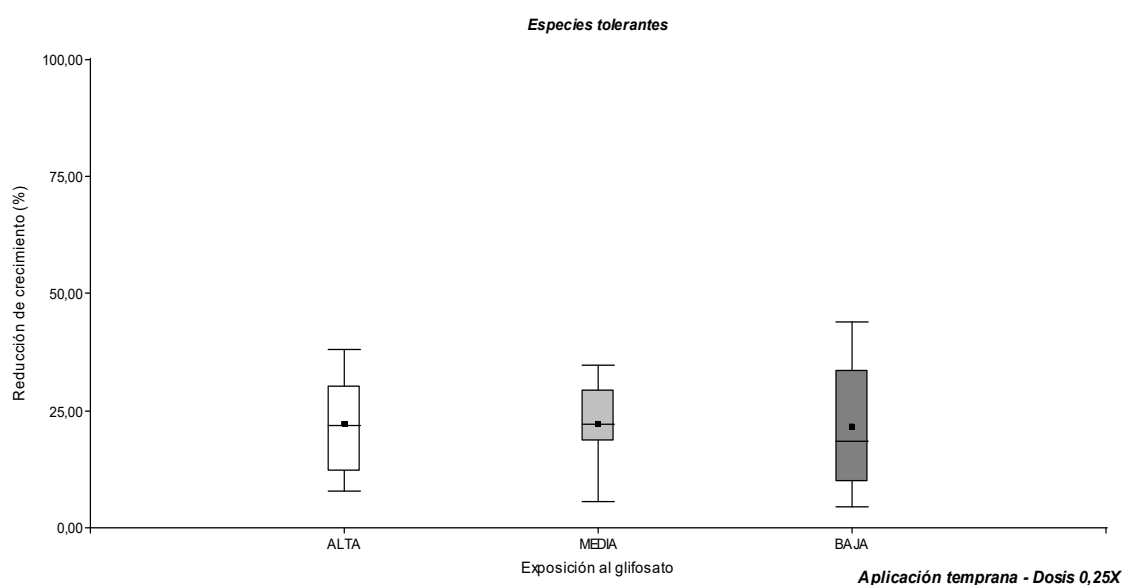


Figura 3.21. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al

glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). No se encontraron diferencias significativas.

En el gráfico de dispersión (Figura 3.22) se puede ver como la respuesta de este grupo de especies tolerantes al glifosato tratadas tempranamente con el herbicida, fue similar en términos de reducción de biomasa de las plántulas provenientes de sitios con alta ($r^2=0,18$; $p=0,163$) y baja ($r^2=0,40$; $p=0,177$) exposición al glifosato.

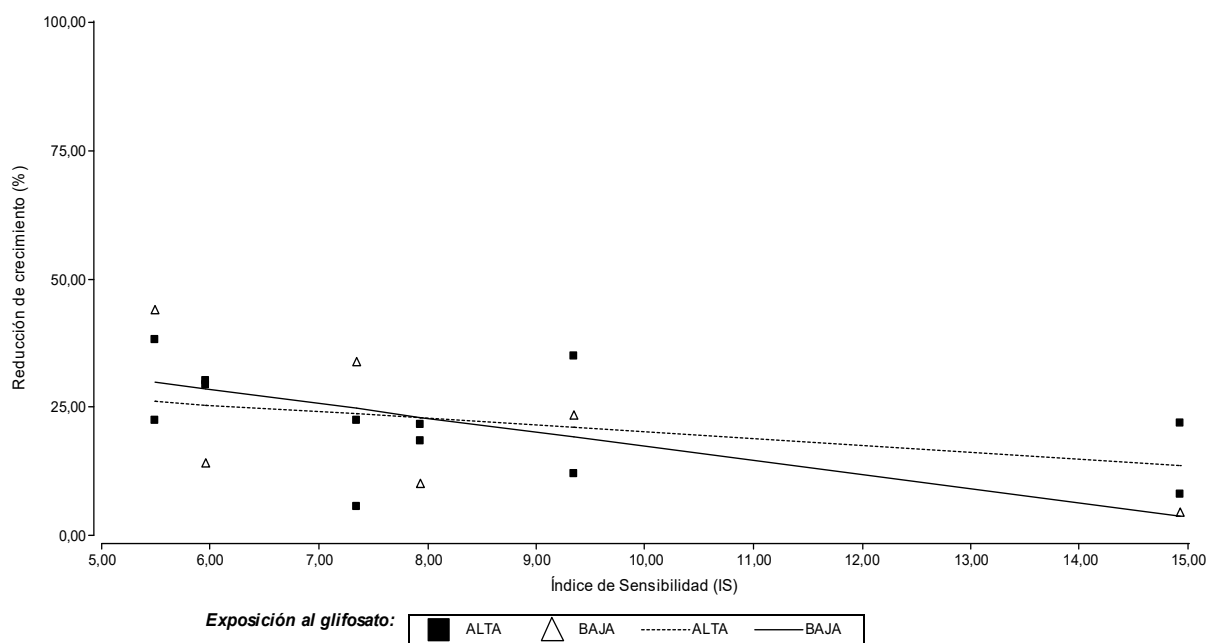


Figura 3.22. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Los números del eje X corresponden a los valores del Índice de Sensibilidad (IS) de las siguientes especies: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2=0,18$; $p=0,163$) y baja ($r^2=0,40$; $p=0,177$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

DOSIS 0,5X

Las especies tolerantes tratadas en un estadio temprano de crecimiento con una dosis de 0,5X de glifosato, no mostraron respuestas significativamente diferente en la

reducción de crecimiento de las plántulas, según sus semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato ($F_{(2)} = 1,69$; $p = 0,217$; Figura 3.23).

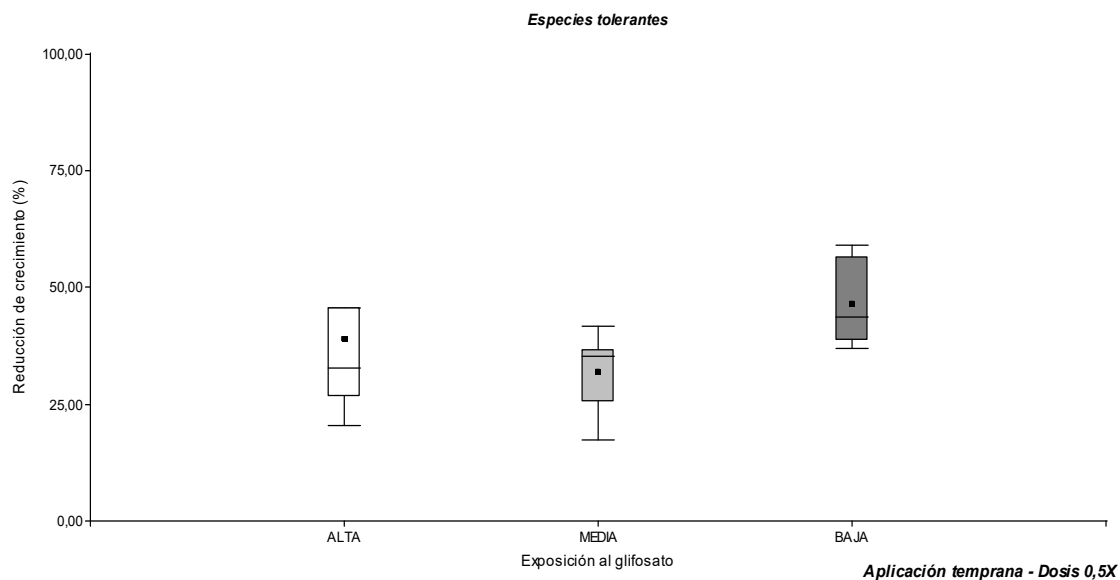


Figura 3.23. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). No se encontraron diferencias significativas.

Cuando se analizó la respuesta de las especies tolerantes luego de ser pulverizadas con una dosis de glifosato de 0,5X en un estadio temprano de crecimiento (5 semanas post-emergencia), la RC fue mayor en las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos de bosque con baja exposición al glifosato ($r^2 = 0,33$; $p = 0,235$), a medida que los valores del IS se incrementaban, mientras que las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos de bosque con alta exposición al glifosato no mostraron ninguna tendencia ($r^2 = 0,003$; $p = 0,867$) (Figura 3.24).

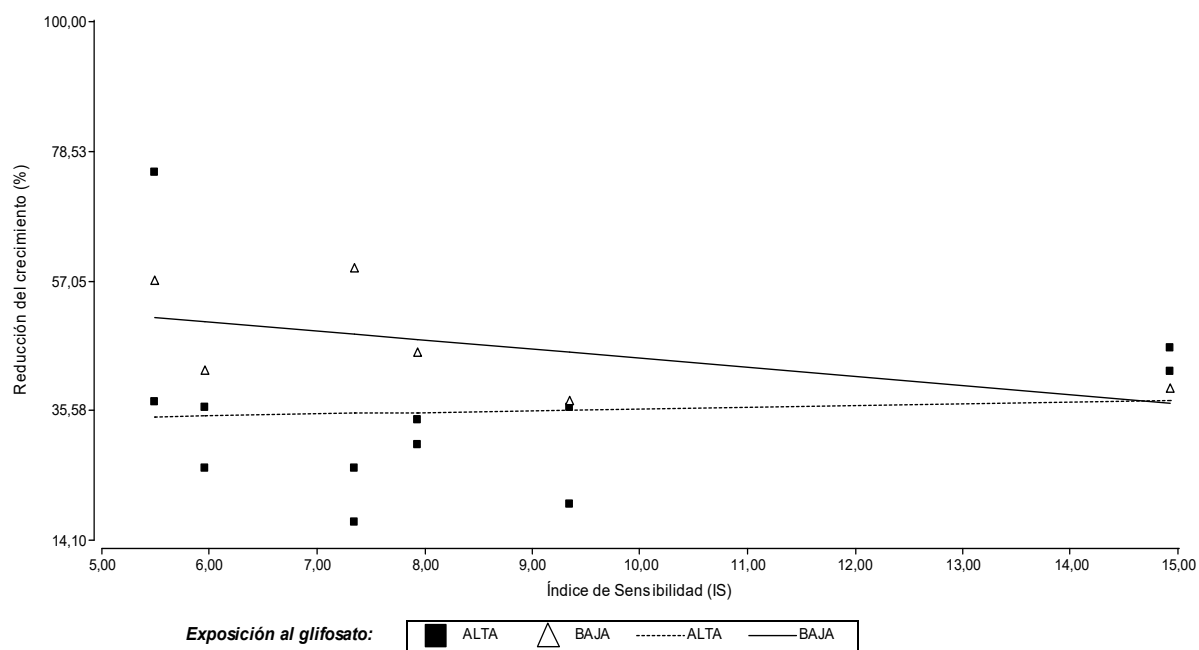


Figura 3.24. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los números del eje X corresponden a los valores del Índice de Sensibilidad (IS) de las siguientes especies: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2 = 0,003$; $p = 0,867$) y baja ($r^2 = 0,33$; $p = 0,235$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

DOSIS 1X

Como se registró ya con las dosis inferiores, con la dosis de campo 1X, si bien la RC fue mayor en las plántulas cuyas semillas provenían de sitios con baja exposición al glifosato, esas diferencias no resultaron significativas respecto a la RC que sufrieron las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta y media exposición al glifosato ($F_{(2)}=0,6$; $p = 0,563$; Figura 3.25).

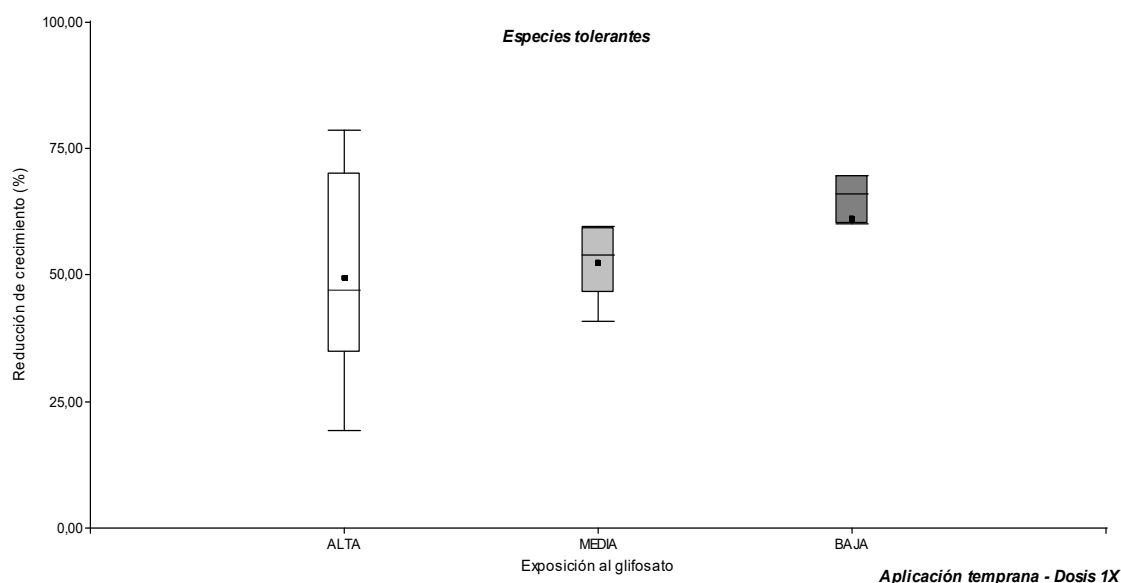


Figura 3.25. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). No se encontraron diferencias significativas.

Al observar la respuesta de las especies tolerantes cuando fueron tratadas con la dosis de campo (1X) (Figura 3.26), se pudo observar que la RC de las especies tolerantes originadas con semillas de fragmentos con alta exposición al glifosato, disminuyo notablemente a medida que los valores del IS se incrementaron ($r^2 = 0,01$; $p = 0,818$).

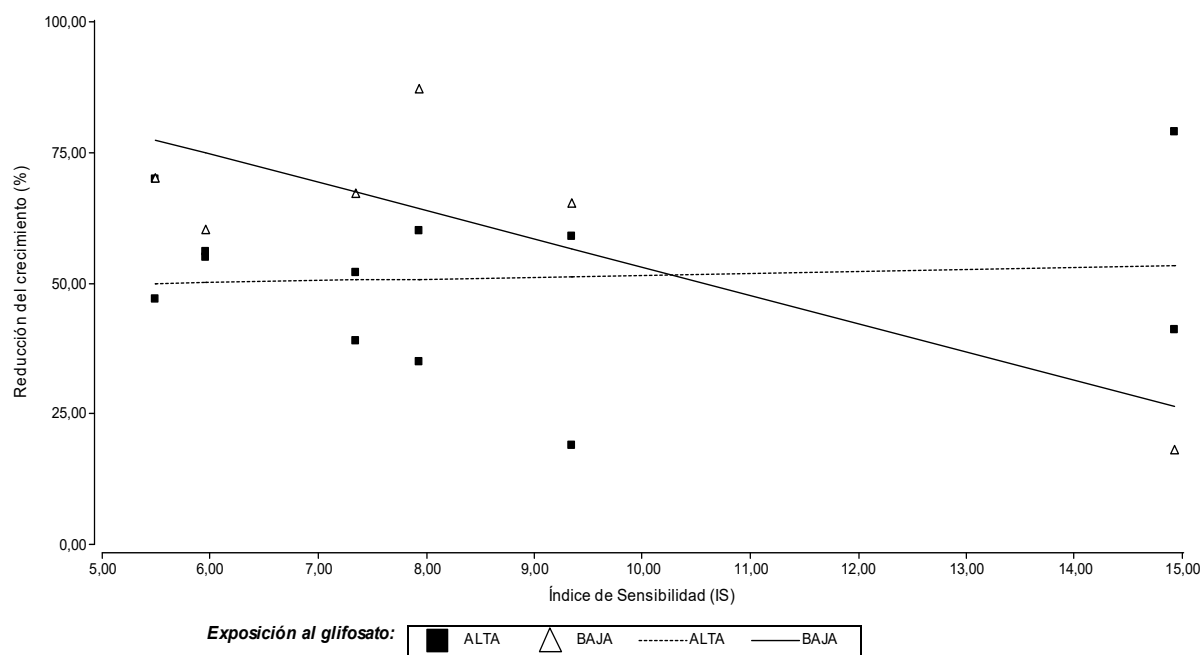


Figura 3.26. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los números del eje X corresponden a los valores del Índice de Sensibilidad (IS) de las siguientes especies: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2 = 0,01$; $p = 0,818$) y baja ($r^2 = 0,65$; $p = 0,052$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

1.4.2 Aplicación tardía a las especies tolerantes

En esta categoría quedaron agrupadas las siguientes especies, por presentar un IS en aplicación tardía del herbicida, mayor a 5: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Setaria parviflora*, *Abutilon pauciflorum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Iresine diffusa*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Dysphania ambrosioides*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*.

DOSIS 0,25X

Analizando, la respuesta de las especies que resultaron tolerantes cuando se las pulverizó con glifosato en una etapa más avanzada de su desarrollo (10 semanas post-emergencia), no se observaron diferencias significativas en la reducción de crecimiento de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas con una dosis de 0,25X del herbicida ($F_{(2)}=0,62$; $p=0,546$; Figura 3.27).

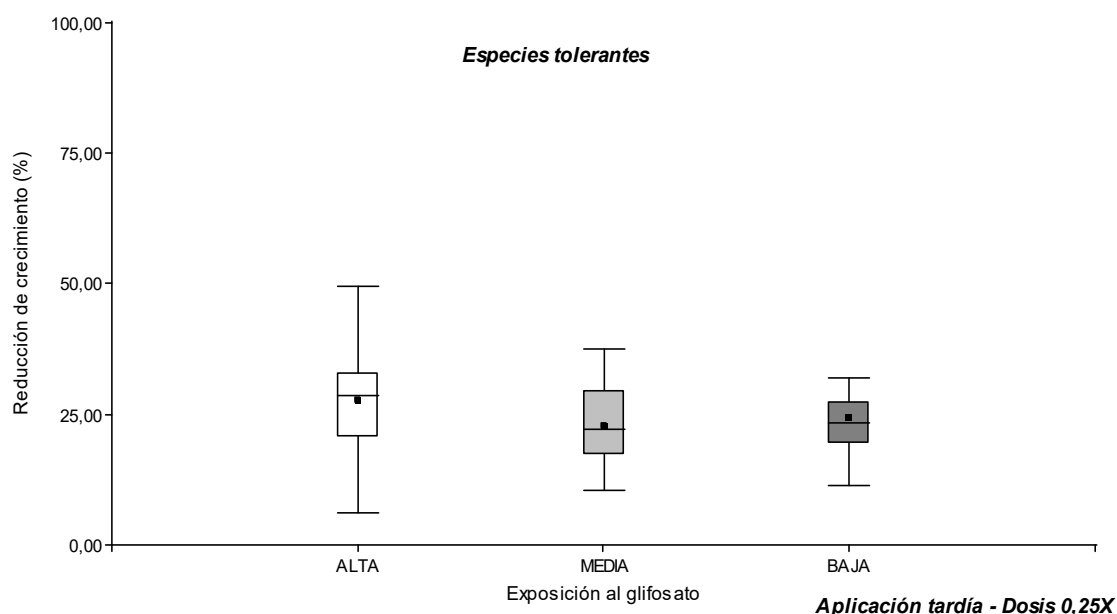


Figura 3.27. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). No se encontraron diferencias significativas.

Al comparar la RC de las especies tolerantes únicamente entre fragmentos con alta y baja exposición al glifosato, se observaron respuestas similares, independientemente del nivel histórico de exposición de las semillas, luego de ser pulverizadas con una dosis de 0,25X del herbicida, con una tendencia a incrementar su RC en relación al IS (Exposición alta al glifosato: $r^2=0,45$; $p=0,0002$. Exposición baja al glifosato: $r^2=0,39$; $p=0,022$) (Figura 3.28).

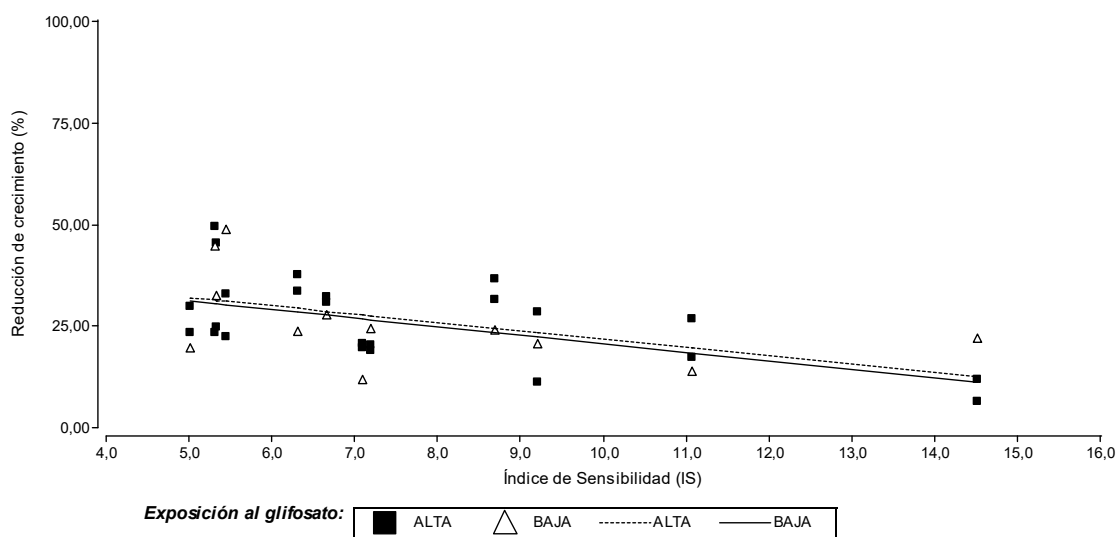


Figura 3.28. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies tolerantes de plantas nativas no-blanco (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los números del eje X corresponden a los valores del Índice de Sensibilidad (IS) de las siguientes especies: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Setaria parviflora*, *Abutilon pauciflorum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Iresine diffusa*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Dysphania ambrosioides*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2=0,45$; $p=0,0002$) y baja ($r^2=0,39$; $p=0,022$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

DOSIS 0,5X

Las especies tolerantes tratadas en un estadio tardío de crecimiento con una dosis de 0,5X de glifosato, no mostraron respuestas significativamente diferente en la reducción de crecimiento de las plántulas, según sus semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato ($F_{(2)} = 1,11$; $p = 0,341$; Figura 3.29).

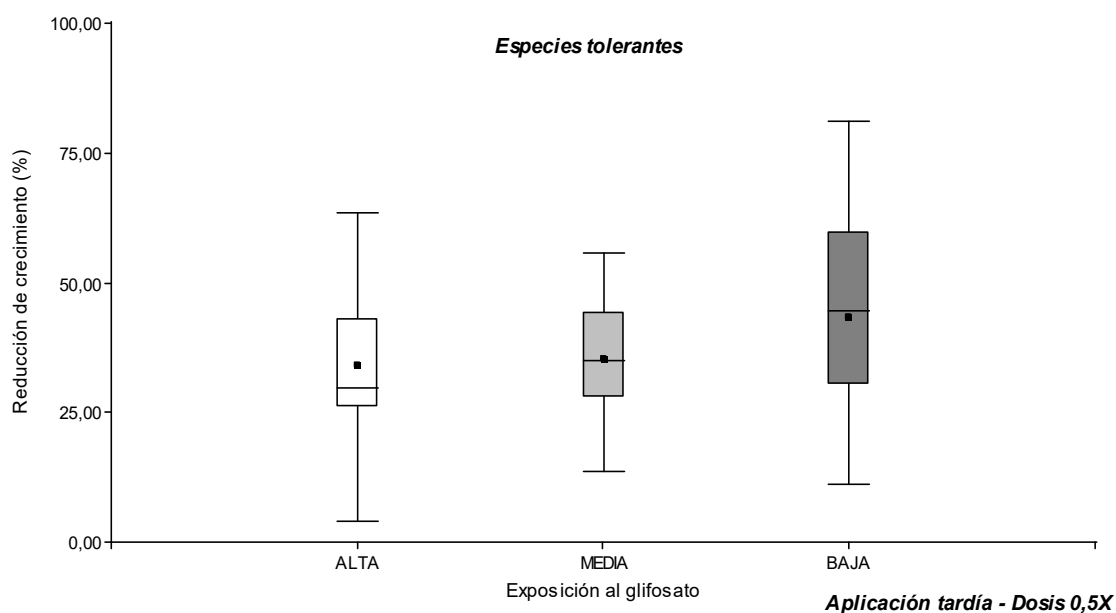


Figura 3.29. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento del grupo de especies de plantas nativas no-blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). No se encontraron diferencias significativas.

Cuando se analizó la respuesta de las especies tolerantes luego de ser pulverizadas con una dosis de glifosato de 0,5X en una etapa más avanzada del crecimiento (10 semanas post-emergencia), la RC fue mayor en las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos de bosque con baja exposición al glifosato, a medida que los valores del IS

crecían, cuando se comparó la respuesta de las mismas ente los fragmentos con alta ($r^2=0,23$; $p=0,012$) y baja ($r^2=0,41$; $p=0,018$) exposición al glifosato (Figura 3.30).

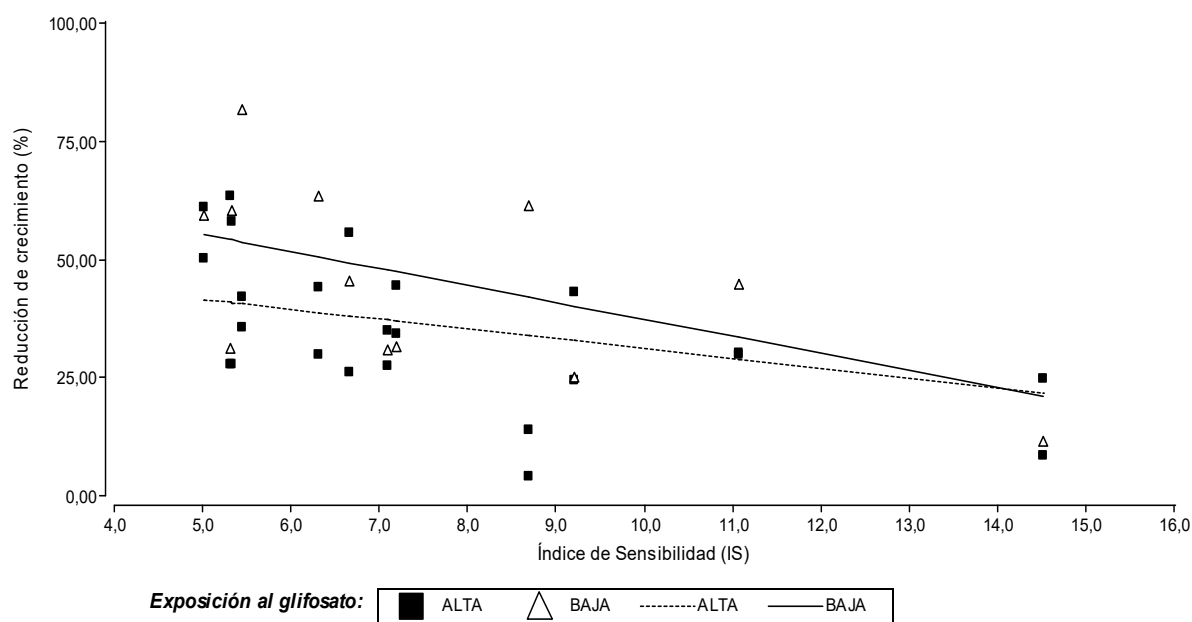


Figura 3.30. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa comparando la reducción del crecimiento del grupo de especies de plantas nativas no-blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los números del eje X corresponden a los valores del Índice de Sensibilidad (IS) de las siguientes especies: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Setaria parviflora*, *Abutilon pauciflorum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Iresine diffusa*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Dysphania ambrosioides*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2=0,23$; $p=0,012$) y baja ($r^2=0,41$; $p=0,018$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

DOSIS 1X

Tal como se observó en las dosis más bajas de glifosato, con la dosis de campo 1X tampoco se registraron diferencias significativas en la reducción de crecimiento de las

plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas en un estadio tardío de crecimiento ($F_{(2)}=1,02$; $p= 0,371$; Figura 3.31).

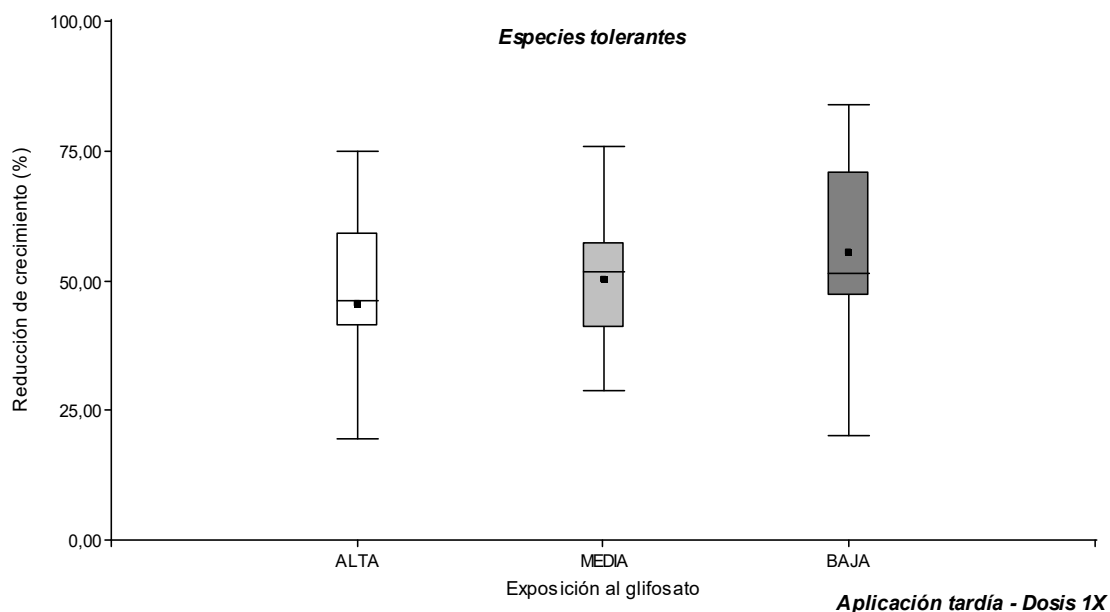


Figura 3.31. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento del grupo de especies de plantas nativas no-blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). No se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$).

En el gráfico de dispersión (Figura 3.32) se puede ver como la respuesta de este grupo de especies tolerantes al glifosato tratadas tardíamente con el herbicida, siguió un patrón que ya veníamos observando en dosis más bajas, e incluso, aquí se presenta más marcado: la RC de las especies originadas con semillas de sitios con alta exposición histórica al glifosato ($r^2= 0,24$; $p= 0,10$), disminuyó conforme los valores de IS se incrementaban, es decir, que las especies muy tolerantes sufrieron menos reducción de crecimiento cuando provenían de fragmentos de bosques muy expuestos al glifosato.

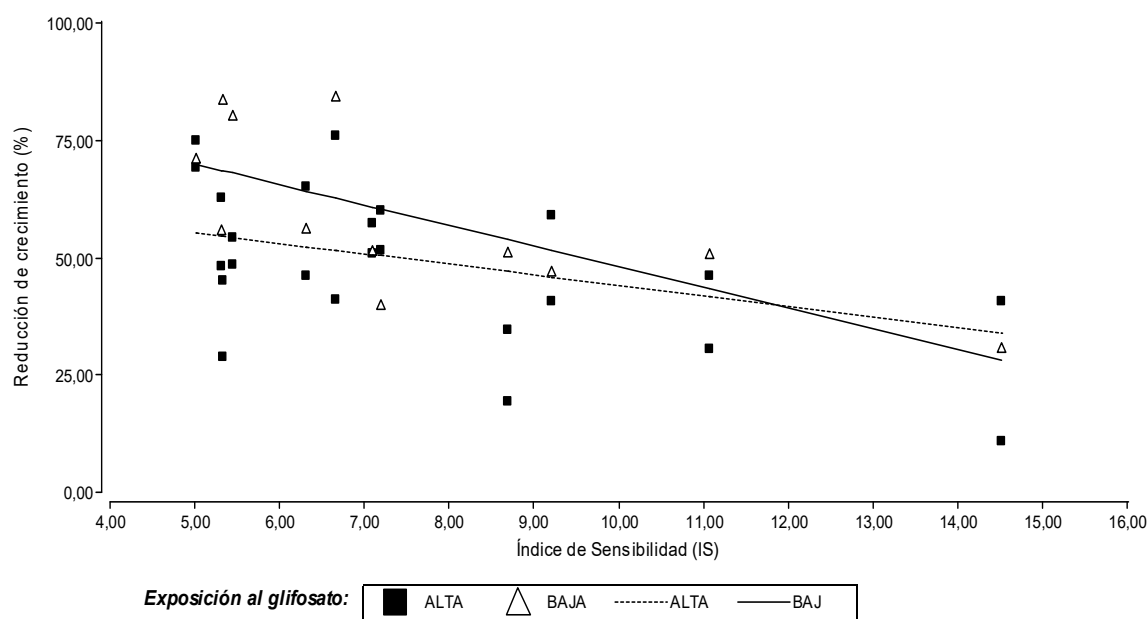


Figura 3.32. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: reducción del crecimiento del grupo de especies de plantas nativas no-blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los números del eje X corresponden a los valores del Índice de Sensibilidad (IS) de las siguientes especies: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Setaria parviflora*, *Abutilon pauciflorum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Iresine diffusa*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Dysphania ambrosioides*, *Sida dactylocarpa* y *Malvastrum interruptum*. Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con esta dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Los datos corresponden al análisis cuantitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta ($r^2 = 0,24$; $p = 0,010$) y baja ($r^2 = 0,65$; $p = 0,0009$) exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

1.5 Selección de modelos

Finalmente se construyeron modelos lineales generales y mixtos (GLM) con el objetivo de encontrar el modelo que mejor explique las variaciones en la reducción de crecimiento observadas entre las especies sensibles y tolerantes, de acuerdo al nivel histórico de exposición al glifosato del fragmento de origen de las semillas (fragmentos con alta, media y baja exposición), y según el estadio de crecimiento en el cual se pulverizaron las plántulas (efecto momento de aplicación, temprano y tardío) con las dosis del herbicida consideradas en estos análisis (0,25X y 1X, ya que representan dosis de deriva por volatilización y de aplicación directa, respectivamente). Considerando lo anteriormente

expuesto, el modelo seleccionado, que resultó ser el que mejor explicaba las variaciones en relación a este conjunto de factores considerados, fue el modelo completo con tres efectos fijos: Especies (sensibles-tolerantes), Nivel de exposición histórica al glifosato (solo con dos niveles: alto y bajo), y el momento de aplicación (temprano-tardío). Este modelo mostro el valor más bajo de AIC (775), y uno de los tres efectos fijos y la interacción de dos de ellos, resultaron significativos (Tabla 3.9), siendo el factor “Especies” el que más aporta a explicar la variabilidad en el modelo ($F_{(1)} = 18,21$; $p < 0,0001$): Con una dosis tan baja de glifosato como 0,25X, las especies sensibles tratadas en un estadio temprano de crecimiento sufren los valores máximos de reducción del crecimiento respecto a las especies tolerantes. Este efecto se ve acrecentado con el gradiente de dosis, pudiendo encontrarse daños más severos en las especies sensibles conforme la dosis de glifosato se incrementa.

Tabla 3.9. Efectos del glifosato según valoración cuantitativa: Los datos corresponden al análisis GLM comparando la reducción del crecimiento en la biomasa de las plántulas en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio temprano y tardío de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y diez semanas post emergencia (aplicación tardía), cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5; confrontar Tabla 3.3). Se muestra el modelo que resulto seleccionado según los criterios de AIC y BIC más bajos.

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
96	775	794,94	-379,51	15,46	0,3

Pruebas de hipótesis tipo III – prueba					
		gl	denDF	F-valor	p-valor
1	Exposición	1	89	0	0,9736
2	Momento	1	89	2,78	0,099
3	Especies	1	89	18,21	<0,0001
4	Exposición: Momento	1	89	0,01	0,9405
5	Exposición: Especies	1	89	0,46	0,4976
6	Momento: Especies	1	89	8,32	0,0049

	Valor	Error estándar	t-valor	p-valor
(Intercepto)	29,65	4,38	6,77	<0,0001

Exposición Baja	1,95	5,77	0,34	0,7366
Momento Temprano	15,29	5,33	2,87	0,0052
Especies Tolerantes	-2,42	5,61	-0,43	0,6675
Exposición Baja: Momento Temprano	0,49	6,61	0,07	0,9405
Exposición Baja: Especies Tolerantes	-4,6	6,76	-0,68	0,4976
Momento Temprano:Especies Tolerantes	-19,7	6,83	-2,88	0,0049

RC - Medias ajustadas y errores estándares para Especies

DGC (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Especies	Medias	E.E.	
Sensibles	38,39	2,09	A
Tolerantes	23,82	2,7	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Momento	Especies	Medias	E.E.	
Temprano	Sensibles	46,16	2,58	A
Tardío	Sensibles	30,62	3,3	B
Tardío	Tolerantes	25,9	3,03	B
Temprano	Tolerantes	21,74	4,46	B

2. *Efectos del glifosato según valoración cualitativa*

Los primeros síntomas del efecto del glifosato sobre las plántulas comenzaron a observarse visualmente a los cinco días después de la aplicación del herbicida. Estos síntomas se hicieron más severos con el paso del tiempo, lo cual puede ser explicado por el carácter sistémico de este herbicida, el cual puede seguir produciendo efectos incluso 20 días después de su aplicación. El síntoma más evidente con la aplicación de dosis bajas fue clorosis (manchas amarillas sobre las hojas). Con la aplicación de dosis más altas se observó, principalmente, necrosis de tejidos, marchitez y muerte. De acuerdo a la manifestación de

síntomas de fitotoxicidad, se clasificaron las especies tratadas en cinco categorías, según el nivel de clorosis, daño foliar y/o marchitez observado.

Los resultados muestran que las pulverizaciones produjeron fitotoxicidad en todas las especies tratadas (Figura 3.33, Tablas 3.12 A y B). Además, se observó que todas las dosis empleadas (incluso aquella que representa $\frac{1}{4}$ de la utilizada habitualmente en el campo) produjeron síntomas de daño en las plántulas.

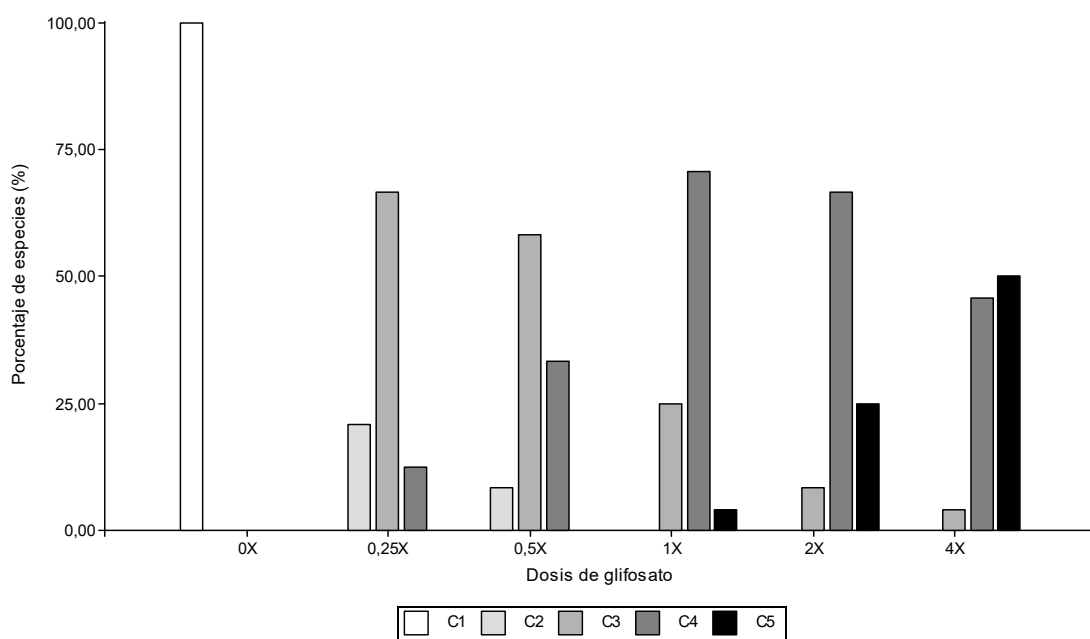


Figura 3.33. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en 24 especies nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 31/\text{ha}$). Las barras muestran el porcentaje de especies tratadas en las que se observó cada categoría de fitotoxicidad, para cada uno de los tratamientos con glifosato (0X; 0,25X; 0,5X; 1X; 2X y 4X). Categorías de Fitotoxicidad: **C1**) ausencia de fitotoxicidad (0% de daño); **C2**) fitotoxicidad leve (1-30% de daño); **C3**) fitotoxicidad moderada (31-69% de daño); **C4**) fitotoxicidad severa (70-99% de daño); **C5**) muerte (100% de daño). Los síntomas de fitotoxicidad fueron registrados 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre las plántulas (ver sección Material y Métodos). Los datos corresponden al total de plántulas tratadas de cada especie, considerando todos los factores medidos en este capítulo.

El porcentaje de fitotoxicidad para el conjunto de 24 especies fue significativamente mayor ($F_{(5)} = 946,53$ $p < 0,001$) a medida que aumentó la dosis de glifosato aplicada (Tabla 3.35). El porcentaje de fitotoxicidad promedio fue del 46% con $\frac{1}{4}$ de la dosis utilizada en el campo, observándose una fitotoxicidad superior al 78% con la dosis habitualmente usada en el campo (Figura 3.34).

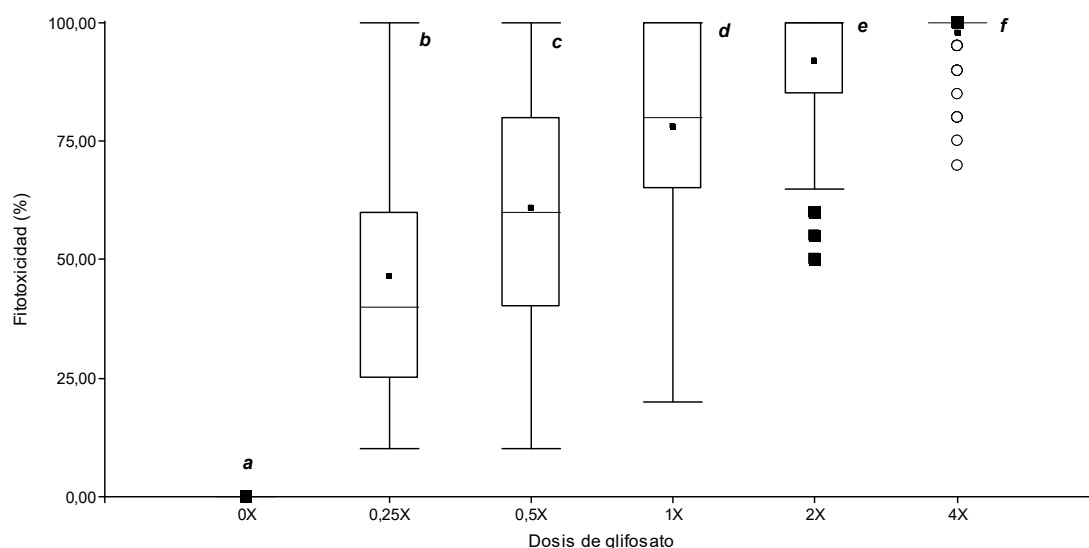


Figura 3.34. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Porcentaje de fitotoxicidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (X = 3 l/ha). Letras distintas indican diferencias significativas.

Para el conjunto de 24 especies estudiadas, no se encontraron diferencias significativas entre la fitotoxicidad registrada en plántulas tratadas 5 semanas después de la emergencia y aquellas en las que el glifosato se aplicó 10 semanas después de la emergencia ($F_{(1)} = 0,0286$; $p = 0,8658$; Tabla 3.10 y Figura 3.35).

Tabla 3.10. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: ANOVA bifactorial anidados para analizar las variaciones en la fitotoxicidad según el momento de aplicación del glifosato sobre plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco estudiadas, tratadas con dosis crecientes de glifosato. El factor dosis estuvo anidado dentro del factor momento de aplicación. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, SC “suma de cuadrados”, CM “cuadrados medios”, F “estadístico F”, *** $= <0.001$

	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	9	9	0.0286	0.8658
Dosis	5	2793570	558714	1837.9754	<2e-16 ***
Momento: Dosis	5	2668	534	1.7556	0.1187
Residuos	2580	784277	304		

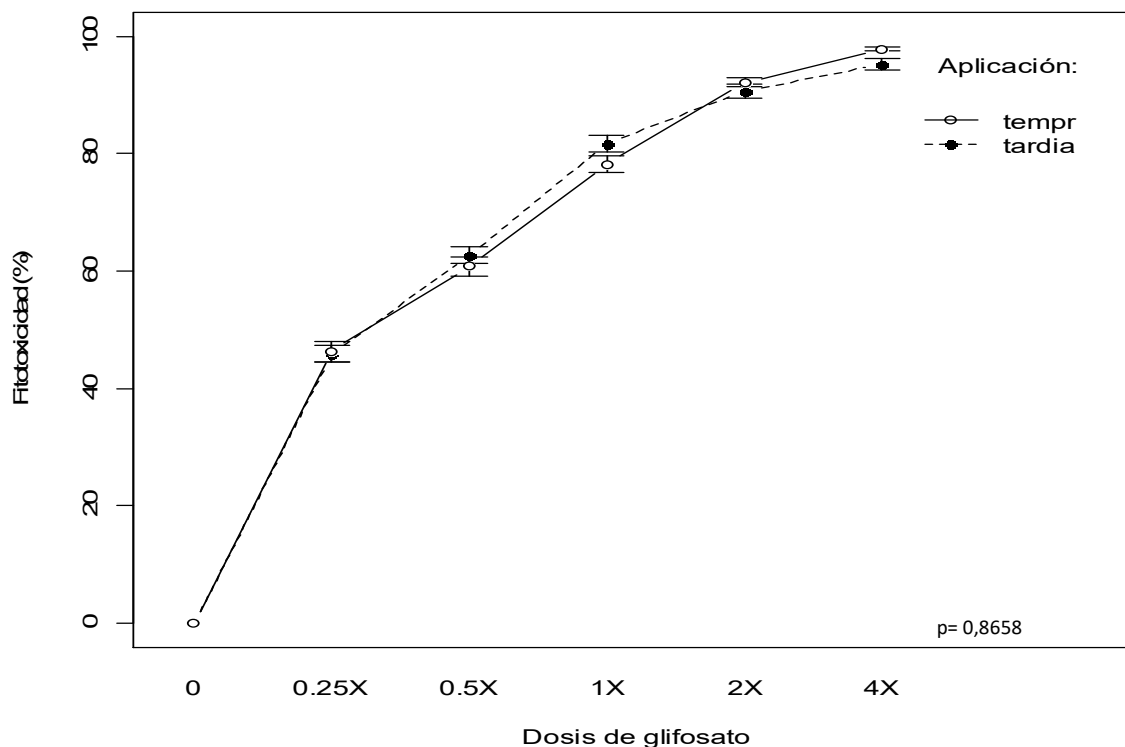


Figura 3.35 Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas de 24 especies vegetales nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). La mitad de las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y la otra mitad, diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. No se encontraron diferencias significativas.

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de fitotoxidad entre plántulas cuyas semillas se originaron en fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición al glifosato ($F_{(2)} = 1,98$; $p = 0,1386$) (Figura 3.36).

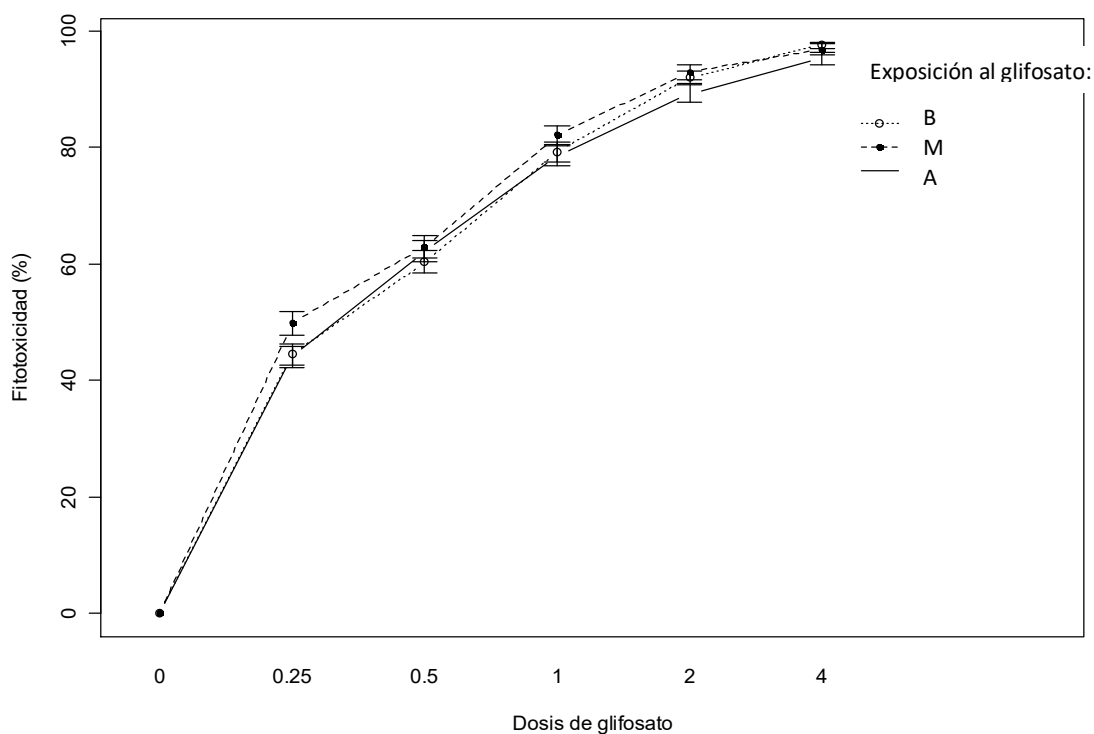


Figura 3.36. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas de 24 especies vegetales nativas no-blancas pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3$ l/ha). Los datos corresponden a plántulas desarrolladas a partir de semillas provenientes de fragmentos con alta (A), media (M) y baja (B) exposición al glifosato (ver sección Materiales y Métodos). Los datos corresponden al análisis visual realizado 21 días post tratamiento.

Las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta exposición al glifosato, mostraron una fitotoxicidad significativamente mayor cuando se aplicó el glifosato en un estadio temprano del crecimiento ($F_{(1)} = 9,32$; $p = 0,002$), mientras que en el caso de las plántulas que provenían de sitios con baja exposición al glifosato, la fitotoxicidad fue significativamente superior cuando se aplicó el glifosato 10 semanas post emergencia ($F_{(1)} = 14,09$; $p = 0,0001$; Figura 3.37). No se observaron diferencias significativas en la respuesta de las plántulas cuyas semillas provenían de sitios un nivel histórico medio de exposición al herbicida entre los dos momentos de aplicación ($F_{(1)} = 0,02$; $p = 0,893$; Figura 3.37) (Tabla 3.11).

Tabla 3.11. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: ANOVAs bifactoriales anidados para analizar las variaciones en la fitotoxicidad según el momento de aplicación del glifosato sobre

plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco estudiadas, en cada uno de los niveles históricos de exposición al glifosato. El factor dosis estuvo anidado dentro del factor momento de aplicación. Abreviaturas: gl “grados de libertad”, SC “suma de cuadrados”, CM “cuadrados medios”, F “estadístico F”, *** =<0.001

FRAGMENTOS CON ALTA EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO					
	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	2944	2944	9.3260	0.00233 **
Dosis	5	904250	180850	572.8042	< 2e-16 ***
Momento: Dosis	5	1060	212	0.6716	0.64508
Residuos	852	269000	316		
FRAGMENTOS CON EXPOSICIÓN MEDIA AL GLIFOSATO					
	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	6	6	0.0179	0.8936
Dosis	5	940314	188063	593.9209	<2e-16 ***
Momento: Dosis	5	1138	228	0.7188	0.6094
Residuos	852	269783	317		
FRAGMENTOS CON BAJA EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO					
	gl	SC	CM	F	p-valor
Momento	1	3813	3813	14.0981	0.0001853 ***
Dosis	5	952003	190401	704.0253	< 2.2e-16 ***
Momento: Dosis	5	2800	560	2.0708	0.0669153
Residuos	852	230420	270		

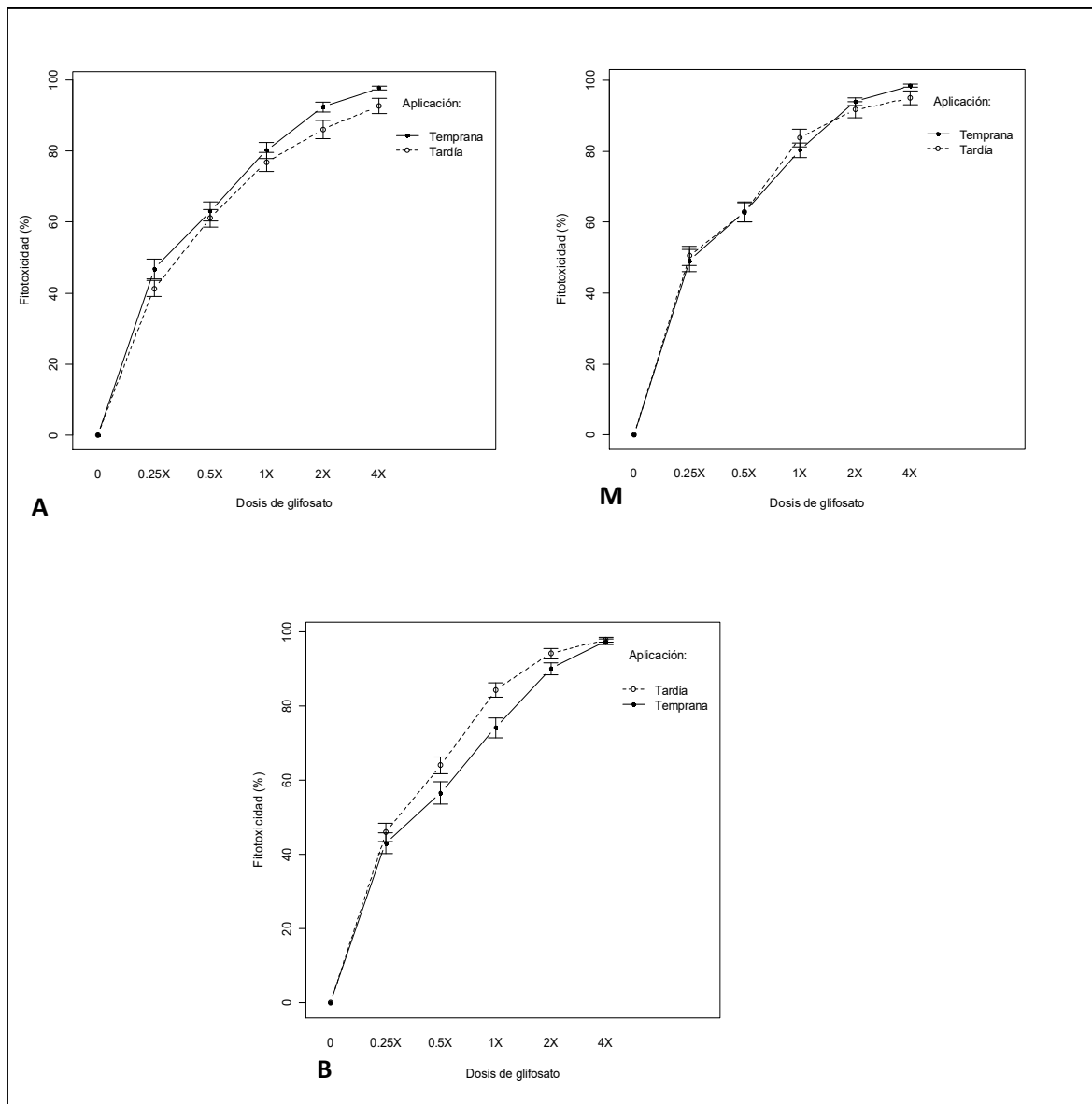


Figura 3.37. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad promedio para 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato (X = 3 l/ha). La mitad de las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y la otra mitad, diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta (A), media (M) y baja (B) exposición al glifosato.

En el Apéndice II, se muestran las curvas de fitotoxicidad para cada una de las 24 especies tratadas, considerando el momento de aplicación del glifosato y el grado de exposición al glifosato de los fragmentos de bosque en donde se recolectaron las semillas.

Cuando se analizó individualmente la respuesta de las especies según el momento de aplicación, en la mayoría de las especies no se encontraron diferencias significativas al comparar las curvas de fitotoxicidad según el origen de las semillas (fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición). Solo se registraron diferencias significativas en términos de fitotoxicidad en plántulas de las especies *Amphilophium carolinae*, *Sida dyctiocarpa*, *Malvastrum interruptum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Abutilon pauciflorum* y *Schinus fasciculatus*, las cuales sufrieron mayor fitotoxicidad cuando sus semillas provenían de sitios con alta exposición a glifosato. Es importante destacar que las tres primeras especies mencionadas, fueron consideradas en los análisis previos (ver subsección 4.2 de Materiales y Métodos) como tolerantes al herbicida por presentar un Índice de Sensibilidad (IS) mayor a 5 cuando fueron tratadas en un estadio temprano de crecimiento (Tabla 3.12 A). El resto de las especies detalladas anteriormente, si bien no estuvieron en el grupo de especies tolerantes, presentaron un IS superior a 2,4 en todos los casos (Tabla 3.12 A).

Al evaluar el análisis cualitativo de las especies cuando fueron pulverizadas con glifosato en una etapa más avanzada del crecimiento (10 semanas post-emergencia) (Tabla 3.12 B), la fitotoxicidad varió significativamente entre las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos de bosque con alta, media y baja exposición al herbicida solo en las siguientes especies: *Paspalum malacophyllum*, *Amphilophium carolinae*, *Rivina humilis*, *Solanum pseudocapsicum* e *Iresine diffusa*. El resto de las especies tratadas mostraron respuestas similares en términos de fitotoxicidad, independientemente del origen de sus semillas. De las cinco especies mencionadas recientemente, solo *Paspalum malacophyllum* no está en el grupo de especies tolerantes al glifosato cuando son tratadas en un estadio tardío de crecimiento (ver subsección 4.2 de Materiales y Métodos), aunque su IS fue elevado (3,9). Las restantes cuatro especies resultaron tolerantes a este herbicida por presentar un IS mayor a 5 (Tabla 3.12 B).

Tabla 3.12 A. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: fitotoxicidad en 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3$ l/ha). Los datos muestran el porcentaje promedio de daño observado en las plántulas tratadas con cada una de las dosis de glifosato y su correspondiente desvío estándar (DE). Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). El porcentaje de daño en las plántulas fue determinado de acuerdo a la manifestación de síntomas de clorosis, daño foliar, marchitez y/o muerte respecto al control. En las plántulas utilizadas como control para cada especie no se observó ninguno de los síntomas de fitotoxicidad considerados en este trabajo. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron ordenadas en orden decreciente de sensibilidad al glifosato (según IS).

FITOTOXICIDAD (APLICACIÓN TEMPRANA)														
DOSIS DE GLIFOSATO														
ESPECIE	EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO	0X	± DE	0,25X	± DE	0,5X	± DE	1X	± DE	2X	± DE	4X	± DE	IS
<i>Bidens subalternans</i>	ALTA	0,00	0,00	95,00	0,00	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
	MEDIA	0,00	0,00	95,00	0,00	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
	BAJA	0,00	0,00	100,00	0,00	100	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
	X ± DE	0,00	0,00	96,67	0,00	98,33	1,93	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
<i>Cyperus</i> sp.	ALTA	0,00	0,00	63,33	5,77	86,67	7,64	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,600
	MEDIA	0,00	0,00	48,33	2,89	65,00	5,00	81,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,769
	BAJA	0,00	0,00	58,33	2,89	73,33	2,89	83,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,538
	X ± DE	0,00	0,00	56,66	3,85	75,00	5,18	88,33	1,93	100,00	0,00	100,00	0,00	1,636
<i>Baccharis glutinosa</i>	ALTA	0,00	0,00	33,33	5,77	56,67	5,77	70,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,800

<i>Paspalum malacophyllum</i>	MEDIA	0,00	0,00	21,67	2,89	46,67	5,77	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,846
	BAJA	0,00	0,00	21,67	2,89	28,33	2,89	68,33	10,41	85,00	8,66	100,00	0,00	1,308
	X ± DE	0,00	0,00	25,56	3,85	43,89	4,81	78,89	6,10	95,00	2,89	100,00	0,00	1,651
	ALTA	0,00	0,00	45,00	5,00	66,67	5,77	80,00	5,00	86,67	5,77	91,67	2,89	1,733
<i>Gouinia latifolia</i>	MEDIA	0,00	0,00	63,33	5,77	81,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,923
	BAJA	0,00	0,00	38,33	2,89	55,00	5,00	80,00	17,32	96,67	5,77	100,00	0,00	1,346
	X ± DE	0,00	0,00	48,89	4,55	67,78	4,55	86,11	8,40	94,45	3,85	97,22	0,96	1,668
	ALTA	0,00	0,00	83,33	5,77	86,67	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,867
<i>Exhalimolobos weddelli</i>	MEDIA	0,00	0,00	90,00	0,00	93,33	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,385
	BAJA	0,00	0,00	58,33	10,41	73,33	5,77	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	1,923
	X ± DE	0,00	0,00	77,22	5,39	84,44	4,81	97,22	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,725
	ALTA	0,00	0,00	36,67	5,77	56,67	5,77	75,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,833
<i>Setaria hunzikeri</i>	MEDIA	0,00	0,00	21,67	2,89	55,00	5,00	78,33	7,64	98,33	2,89	100,00	0,00	1,769
	BAJA	0,00	0,00	65,00	8,66	73,33	5,77	85,00	5,00	98,33	2,89	100,00	0,00	2,231
	X ± DE	0,00	0,00	41,11	5,77	61,67	5,51	79,44	5,88	98,89	1,93	100,00	0,00	1,944
	ALTA	0,00	0,00	90,00	0,00	95	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,667
	MEDIA	0,00	0,00	86,67	5,77	91,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,885
	BAJA	0,00	0,00	58,33	2,89	83,33	2,89	93,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,462
	X ± DE	0,00	0,00	78,33	2,89	90,00	1,93	97,22	1,93	100,00	0,00	100,00	0,00	2,338

<i>Setaria parviflora</i>	ALTA	0,00	0,00	83,33	5,77	85,00	5,00	100	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	2,333
	MEDIA	0,00	0,00	83,33	5,77	91,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,000
	BAJA	0,00	0,00	58,33	10,41	81,67	7,64	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	3,000
	X ± DE	0,00	0,00	75,00	7,32	86,11	5,18	97,22	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,444
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	ALTA	0,00	0,00	21,67	2,89	43,33	5,77	73,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	1,667
	MEDIA	0,00	0,00	20,00	0,00	28,33	2,89	56,67	5,77	93,33	7,64	100,00	0,00	3,846
	BAJA	0,00	0,00	10,00	0,00	15,00	0,00	48,33	10,41	78,33	14,43	96,67	2,89	1,846
	X ± DE	0,00	0,00	17,22	0,96	28,89	2,89	59,44	7,32	90,55	7,36	98,89	0,96	2,453
<i>Dysphania ambrosioides</i>	ALTA	0,00	0,00	43,33	5,77	56,67	5,77	76,67	5,77	91,67	2,89	95	0,00	1,667
	MEDIA	0,00	0,00	43,33	2,89	53,33	2,89	71,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	1,769
	BAJA	0,00	0,00	46,67	11,55	71,67	20,21	88,33	10,41	98,33	2,89	100,00	0,00	4,615
	X ± DE	0,00	0,00	44,44	6,74	60,56	9,62	78,89	6,36	96,11	2,89	98,33	0,00	2,684
<i>Piptochaetium</i> sp	ALTA	0,00	0,00	33,33	5,77	56,67	5,77	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	1,267
	MEDIA	0,00	0,00	83,33	5,77	91,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	4,808
	BAJA	0,00	0,00	58,33	2,89	73,33	2,89	86,67	7,64	100,00	0,00	100,00	0,00	2,077
	X ± DE	0,00	0,00	58,33	4,81	73,89	3,85	92,78	5,43	100,00	0,00	100,00	0,00	2,717
<i>Schinus fasciculatus</i>	ALTA	0,00	0,00	13,33	2,89	18,33	2,89	26,67	11,55	100,00	0,00	100,00	0,00	2,533
	MEDIA	0,00	0,00	18,33	2,89	41,67	2,89	75,00	13,23	90,00	0,00	93,33	2,89	3,077
	BAJA	0,00	0,00	10,00	0,00	10,00	0,00	28,33	2,89	76,67	11,55	98,33	2,89	3,231

<i>Abutilon pauciflorum</i>	X ± DE	0,00	0,00	13,89	1,93	23,33	1,93	43,33	9,22	88,89	3,85	97,22	1,93	2,947
	ALTA	0,00	0,00	31,67	2,89	46,67	5,77	85,00	8,66	90,00	5,00	100,00	0,00	4,333
	MEDIA	0,00	0,00	78,33	2,89	85	0,00	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	4,231
	BAJA	0,00	0,00	25,00	5,00	28,33	2,89	68,33	23,63	81,67	16,07	100,00	0,00	1,769
<i>Jarava ichu</i>	X ± DE	0,00	0,00	45,00	3,59	53,33	2,89	83,89	11,73	90,56	7,02	100,00	0,00	3,444
	ALTA	0,00	0,00	56,67	5,77	80,00	10,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	4,333
	MEDIA	0,00	0,00	83,33	5,77	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,423
	BAJA	0,00	0,00	58,33	2,89	73,33	2,89	88,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	4,615
<i>Bouteloua courtipendula</i>	X ± DE	0,00	0,00	66,11	4,81	82,22	6,22	96,11	0,96	100	0,00	100	0,00	3,457
	ALTA	0,00	0,00	66,67	5,77	86,67	7,64	93,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,333
	MEDIA	0,00	0,00	55,00	5,00	85,00	5,00	96,67	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	7,692
	BAJA	0,00	0,00	88,33	7,64	91,67	2,89	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,538
<i>Chromolaena hookeriana</i>	X ± DE	0,00	0,00	70,00	6,14	87,78	5,18	95,56	3,85	100,00	0,00	100,00	0,00	3,521
	ALTA	0,00	0,00	61,67	2,89	85,00	8,66	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	2,533
	MEDIA	0,00	0,00	43,33	2,89	63,33	2,89	88,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,692
	BAJA	0,00	0,00	43,33	5,77	71,67	16,07	93,33	5,77	98,33	2,89	100,00	0,00	5,385
<i>Rivina humilis</i>	X ± DE	0,00	0,00	49,44	3,85	73,33	9,21	93,89	2,89	99,44	0,96	100,00	0,00	3,537
	ALTA	0,00	0,00	23,33	5,77	40,00	5,00	56,67	5,77	68,33	7,64	83,33	5,77	3,333
	MEDIA	0,00	0,00	21,67	2,89	36,67	5,77	56,67	5,77	86,67	5,77	100	0,00	5,385

<i>Iresine diffusa</i>	BAJA	0,00	0,00	23,33	5,77	35,00	5,00	53,33	5,77	75,00	5,00	78,33	2,89	3,077
	X ± DE	0,00	0,00	22,78	4,81	37,22	5,26	55,56	5,77	76,67	6,14	87,22	2,89	3,932
	ALTA	0,00	0,00	35,00	5,00	53,33	5,77	73,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	5,667
	MEDIA	0,00	0,00	16,67	5,77	26,67	2,89	53,33	5,77	88,33	10,41	100,00	0,00	5,000
	BAJA	0,00	0,00	28,33	2,89	45,00	5,00	76,67	17,56	93,33	5,77	96,67	5,77	3,077
<i>Sida rhombifolia</i>	X ± DE	0,00	0,00	26,67	4,55	41,67	4,55	67,78	9,70	93,89	5,39	98,89	1,92	4,581
	ALTA	0,00	0,00	21,67	2,89	48,33	2,89	61,67	2,89	66,67	10,41	81,67	2,89	2,067
	MEDIA	0,00	0,00	21,67	2,89	43,33	5,77	65,00	5,00	81,67	2,89	88,33	2,89	11,538
	BAJA	0,00	0,00	43,33	5,77	66,67	7,64	80,00	10,00	90,00	5,00	93,33	2,89	2,885
	X ± DE	0,00	0,00	28,89	3,85	52,78	5,43	68,89	5,96	79,45	6,10	87,78	2,89	5,497
<i>Malvastrum interruptum</i>	ALTA	0,00	0,00	61,67	2,89	85,00	8,66	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	5,800
	MEDIA	0,00	0,00	43,33	2,89	53,33	2,89	71,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	6,692
	BAJA	0,00	0,00	25,00	5,00	38,33	2,89	53,33	10,41	88,33	10,41	100,00	0,00	5,385
	X ± DE	0,00	0,00	43,33	3,59	58,89	4,81	75,00	4,43	96,11	3,47	100,00	0,00	5,959
	ALTA	0,00	0,00	31,67	2,89	45,00	5,00	66,67	7,64	81,67	2,89	100,00	0,00	11,333
<i>Ipomoea purpurea</i>	MEDIA	0,00	0,00	40,00	0,00	46,67	2,89	63,33	2,89	76,67	2,89	100,00	0,00	7,692
	BAJA	0,00	0,00	28,33	2,89	48,33	2,89	63,33	2,89	80	5	100,00	0,00	3,000
	X ± DE	0,00	0,00	33,33	1,93	46,67	3,59	64,44	4,47	79,45	3,59	100,00	0,00	7,342
	ALTA	0,00	0,00	36,67	5,77	48,33	2,89	61,67	2,89	81,67	2,89	100,00	0,00	13,333
	ALTA	0,00	0,00	36,67	5,77	48,33	2,89	61,67	2,89	81,67	2,89	100,00	0,00	13,333

<i>Sida spinosa</i>	MEDIA	0,00	0,00	43,33	2,89	51,67	2,89	70,00	0,00	78,33	5,77	100,00	0,00	5,846
	BAJA	0,00	0,00	21,67	2,89	31,67	2,89	41,67	2,89	61,67	2,89	98,33	2,89	4,615
	X ± DE	0,00	0,00	33,89	3,85	43,89	2,89	57,78	1,93	73,89	3,85	99,44	0,96	7,932
	ALTA	0,00	0,00	43,33	5,77	68,33	7,64	73,33	2,89	83,33	2,89	93,33	2,89	16,667
<i>Amphilophium carolinae</i>	MEDIA	0,00	0,00	41,67	2,89	50,00	0,00	61,67	2,89	95,00	8,66	100,00	0,00	6,000
	BAJA	0,00	0,00	50,00	10,00	70,00	17,32	88,33	10,41	98,33	2,89	100,00	0,00	5,385
	X ± DE	0,00	0,00	45,00	6,22	62,78	8,32	74,44	5,40	92,22	4,81	97,78	0,96	9,350
	ALTA	0,00	0,00	11,67	2,89	21,67	2,89	56,67	5,77	68,33	2,89	100,00	0,00	4,000
	MEDIA	0,00	0,00	16,67	2,89	36,67	5,77	48,33	2,89	68,33	7,64	83,33	5,77	10,000
	BAJA	0,00	0,00	13,33	13,33	18,33	2,89	26,67	2,89	58,33	7,64	71,67	2,89	30,769
	X ± DE	0,00	0,00	13,89	6,37	25,56	3,85	43,89	3,85	65,00	6,06	85,00	2,89	14,923

TABLA 3.12 B. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: fitotoxicidad en 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos muestran el porcentaje promedio de daño observado en las plántulas tratadas con cada una de las dosis de glifosato y su correspondiente desvío estándar (DE). Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). El porcentaje de daño en las plántulas fue determinado de acuerdo a la manifestación de síntomas de clorosis, daño foliar, marchitez y/o muerte respecto al control. En las plántulas utilizadas como control para cada especie no se observó ninguno de los síntomas de fitotoxicidad considerados en este trabajo. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron ordenadas en orden decreciente de sensibilidad al glifosato (según IS).

FITOTOXICIDAD (APLICACIÓN TARDÍA)														
DOSIS DE GLIFOSATO														
ESPECIE	EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO	0X	± DE	0,25X	± DE	0,5X	± DE	1X	± DE	2X	± DE	4X	± DE	IS
<i>Bidens subalternans</i>	ALTA	0,00	0,00	80,00	5,00	93,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
	MEDIA	0,00	0,00	95,00	0,00	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
	BAJA	0,00	0,00	93,33	2,89	95,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
	X ± DE	0,00	0,00	89,44	2,63	95,00	1,93	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,000
<i>Chromolaena hookeriana</i>	ALTA	0,00	0,00	55,00	8,66	75,00	17,32	93,33	5,77	98,33	2,89	100,00	0,00	2,786
	MEDIA	0,00	0,00	63,33	2,89	80,00	13,23	95,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	3,692
	BAJA	0,00	0,00	56,67	2,89	73,33	2,89	86,67	11,55	100,00	0,00	100,00	0,00	3,111
	X ± DE	0,00	0,00	58,33	4,81	76,11	11,15	91,67	7,44	99,44	0,96	100,00	0,00	3,196
<i>Jarava ichu</i>	ALTA	0,00	0,00	55,00	5,00	80,00	5,00	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	5,429

<i>Exhalimolobos weddelli</i>	MEDIA	0,00	0,00	66,67	2,89	73,33	2,89	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,038
	BAJA	0,00	0,00	61,67	2,89	73,33	2,89	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	3,481
	X ± DE	0,00	0,00	61,11	3,59	75,55	3,59	97,22	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	3,316
	ALTA	0,00	0,00	23,33	2,89	38,33	2,89	83,33	5,77	98,33	2,89	100,00	0,00	2,750
<i>Setaria hunzikeri</i>	MEDIA	0,00	0,00	61,67	11,55	73,33	5,77	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	1,038
	BAJA	0,00	0,00	63,33	7,64	73,33	2,89	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	6,296
	X ± DE	0,00	0,00	49,44	7,36	61,66	3,85	91,11	4,81	99,44	0,96	100,00	0,00	3,362
	ALTA	0,00	0,00	63,33	7,64	86,67	2,89	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,214
<i>Bouteloua courtipendula</i>	MEDIA	0,00	0,00	76,67	2,89	85,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,846
	BAJA	0,00	0,00	63,33	2,89	80,00	8,66	95,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	6,444
	X ± DE	0,00	0,00	67,78	4,47	83,89	5,52	97,22	2,63	100,00	0,00	100,00	0,00	3,502
	ALTA	0,00	0,00	45,00	5,00	70,00	5,00	85,00	8,66	98,33	2,89	100,00	0,00	7,143
<i>Paspalum malacophyllum</i>	MEDIA	0,00	0,00	55,00	5,00	80,00	5,00	95,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,846
	BAJA	0,00	0,00	51,67	2,89	75,00	5,00	95,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,852
	X ± DE	0,00	0,00	50,56	4,30	75,00	5,00	91,67	6,22	99,44	0,96	100,00	0,00	3,614
	ALTA	0,00	0,00	5,00	0,00	41,67	2,89	43,33	2,89	45,00	5,00	86,67	7,64	5,357
	MEDIA	0,00	0,00	66,67	2,89	81,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	1,538
	BAJA	0,00	0,00	55,00	8,66	75,00	5,00	93,33	7,64	98,33	2,89	100,00	0,00	4,963
	X ± DE	0,00	0,00	42,22	3,85	66,11	3,59	78,33	4,47	81,11	2,63	95,56	2,55	3,953

<i>Gouinia latifolia</i>	ALTA	0,00	0,00	63,33	7,64	83,33	5,77	96,67	2,89	98,33	2,89	100,00	0,00	4,643
	MEDIA	0,00	0,00	73,33	5,77	80,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	4,846
	BAJA	0,00	0,00	63,33	2,89	80,00	5,00	93,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,815
	X ± DE	0,00	0,00	66,66	5,43	81,11	5,26	96,67	1,93	99,44	0,96	100,00	0,00	4,101
<i>Schinus fasciculatus</i>	ALTA	0,00	0,00	33,33	5,77	38,33	2,89	46,67	2,89	58,33	5,77	75,00	5,00	2,857
	MEDIA	0,00	0,00	18,33	2,89	36,67	5,77	85,00	5,00	91,67	2,89	93,33	2,89	5,731
	BAJA	0,00	0,00	23,33	2,89	36,67	2,89	70,00	13,23	71,67	5,77	86,67	5,77	5,556
	X ± DE	0,00	0,00	25,00	3,85	37,22	3,85	67,22	7,04	73,89	4,81	85,00	4,55	4,714
<i>Piptochaetium</i> sp.	ALTA	0,00	0,00	36,67	2,89	46,67	2,89	83,33	14,43	100,00	0,00	100,00	0,00	5,000
	MEDIA	0,00	0,00	66,67	2,89	76,67	2,89	95,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	3,846
	BAJA	0,00	0,00	53,33	2,89	68,33	2,89	91,67	7,64	100,00	0,00	100,00	0,00	5,926
	X ± DE	0,00	0,00	52,22	2,89	63,89	2,89	90,00	9,02	100,00	0,00	100,00	0,00	4,924
<i>Cyperus</i> sp.	ALTA	0,00	0,00	53,33	5,77	73,33	5,77	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	6,429
	MEDIA	0,00	0,00	55,00	5,00	65,00	8,66	91,67	7,64	100,00	0,00	100,00	0,00	5,000
	BAJA	0,00	0,00	71,67	7,64	85,00	5,00	96,67	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	3,556
	X ± DE	0,00	0,00	60,00	6,14	74,44	6,48	95,00	4,47	100,00	0,00	100,00	0,00	4,995
<i>Sida dyctiocarpa</i>	ALTA	0,00	0,00	38,33	2,89	51,67	7,64	61,67	11,55	83,33	14,43	100,00	0,00	2,821
	MEDIA	0,00	0,00	46,67	2,89	61,67	2,89	83,33	2,89	96,67	2,89	100,00	0,00	5,769
	BAJA	0,00	0,00	41,67	5,77	66,67	2,89	86,67	5,77	98,33	2,89	100,00	0,00	6,444

<i>Rivina humilis</i>	X ± DE	0,00	0,00	42,22	3,85	60,00	4,47	77,22	6,74	92,78	6,74	100,00	0,00	5,012
	ALTA	0,00	0,00	13,33	2,89	28,33	2,89	31,67	2,89	38,33	2,89	41,67	2,89	1,786
	MEDIA	0,00	0,00	13,33	2,89	23,33	2,89	45,00	5,00	56,67	7,64	90,00	5,00	7,692
	BAJA	0,00	0,00	13,33	2,89	23,33	2,89	46,67	2,89	63,33	2,89	91,67	2,89	6,481
<i>Setaria parviflora</i>	X ± DE	0,00	0,00	13,33	2,89	25,00	2,89	41,11	3,59	52,78	4,47	74,45	3,59	5,320
	ALTA	0,00	0,00	55,00	5,00	80,00	5,00	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	2,286
	MEDIA	0,00	0,00	76,67	2,89	86,67	7,64	98,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	10,769
	BAJA	0,00	0,00	61,67	2,89	71,67	2,89	85,00	5,00	100,00	0,00	100,00	0,00	2,963
<i>Abutilon pauciflorum</i>	X ± DE	0,00	0,00	64,45	3,59	79,45	5,18	93,89	3,59	100,00	0,00	100,00	0,00	5,339
	ALTA	0,00	0,00	46,67	2,89	63,33	5,77	80,00	5,00	91,67	2,89	95,00	0,00	8,571
	MEDIA	0,00	0,00	56,67	7,64	75,00	5,00	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	5,923
	BAJA	0,00	0,00	51,67	7,64	68,33	5,77	90,00	10,00	100,00	0,00	100,00	0,00	1,852
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	X ± DE	0,00	0,00	51,67	6,06	68,89	5,51	87,78	6,92	97,22	0,96	98,33	0,00	5,449
	ALTA	0,00	0,00	35,00	5,00	80,00	8,66	93,33	5,77	96,67	2,89	98,33	2,89	11,071
	MEDIA	0,00	0,00	18,33	2,89	28,33	2,89	55,00	5,00	85,00	5,00	90,00	0,00	5,077
	BAJA	0,00	0,00	23,33	2,89	38,33	2,89	60,00	5,00	88,33	2,89	100,00	0,00	2,815
<i>Sida rhombifolia</i>	X ± DE	0,00	0,00	25,55	3,59	48,89	4,81	69,44	5,26	90,00	3,59	96,11	0,96	6,321
	ALTA	0,00	0,00	43,33	5,77	63,33	5,77	83,33	5,77	88,33	5,77	100,00	0,00	12,857
	MEDIA	0,00	0,00	43,33	5,77	70,00	8,66	85,00	8,66	96,67	2,89	100,00	0,00	3,077

<i>Amphilophium carolinae</i>	BAJA	0,00	0,00	38,33	2,89	65,00	10,00	90,00	5,00	98,33	2,89	100,00	0,00	4,074
	X ± DE	0,00	0,00	41,66	4,81	66,11	8,14	86,11	6,48	94,44	3,85	100,00	0,00	6,669
	ALTA	0,00	0,00	8,33	2,89	13,33	2,89	18,33	2,89	28,33	2,89	31,67	2,89	7,143
	MEDIA	0,00	0,00	5,00	0,00	11,67	2,89	18,33	2,89	18,33	2,89	20,00	0,00	6,731
	BAJA	0,00	0,00	5,00	0,00	13,33	2,89	36,67	2,89	58,33	2,89	78,33	2,89	7,407
<i>Malvastrum interruptum</i>	X ± DE	0,00	0,00	6,11	0,96	12,78	2,89	24,44	2,89	35,00	2,89	43,33	1,93	7,094
	ALTA	0,00	0,00	38,33	2,89	51,67	2,89	73,33	5,77	93,33	5,77	100,00	0,00	5,429
	MEDIA	0,00	0,00	46,67	2,89	66,67	2,89	93,33	2,89	100,00	0,00	100,00	0,00	6,538
	BAJA	0,00	0,00	33,33	2,89	66,67	2,89	86,67	11,55	100,00	0,00	100,00	0,00	9,630
	X ± DE	0,00	0,00	39,44	2,89	61,67	2,89	84,44	6,74	97,78	1,92	100,00	0,00	7,199
<i>Dysphania ambrosioides</i>	ALTA	0,00	0,00	13,33	2,89	63,33	14,43	86,67	11,55	95,00	5,00	100,00	0,00	13,571
	MEDIA	0,00	0,00	56,67	2,89	66,67	2,89	88,33	10,41	100,00	0,00	100,00	0,00	9,615
	BAJA	0,00	0,00	43,33	2,89	66,67	2,89	85,00	13,23	100,00	0,00	100,00	0,00	2,889
	X ± DE	0,00	0,00	37,78	2,89	65,56	6,74	86,67	11,73	98,33	1,67	100,00	0,00	8,692
	ALTA	0,00	0,00	45,00	5,00	63,33	7,64	85,00	5,00	98,33	2,89	100,00	0,00	5,000
<i>Baccharis glutinosa</i>	MEDIA	0,00	0,00	48,33	5,77	61,67	2,89	93,33	5,77	100,00	0,00	100,00	0,00	11,538
	BAJA	0,00	0,00	38,33	2,89	56,67	7,64	93,33	7,64	100,00	0,00	100,00	0,00	11,111
	X ± DE	0,00	0,00	43,89	4,55	60,56	6,06	90,55	6,14	99,44	0,96	100,00	0,00	9,217
	ALTA	0,00	0,00	51,67	11,55	76,67	16,07	86,67	11,55	98,33	2,89	100,00	0,00	8,571
	ALTA	0,00	0,00	51,67	11,55	76,67	16,07	86,67	11,55	98,33	2,89	100,00	0,00	8,571

<i>Sida spinosa</i>	MEDIA	0,00	0,00	18,33	2,89	25,00	5,00	55,00	5,00	81,67	7,64	90,00	5,00	17,308
	BAJA	0,00	0,00	25,00	5,00	58,33	10,41	75,00	5,00	88,33	2,89	93,33	2,89	7,333
	X ± DE	0,00	0,00	31,67	6,48	53,33	10,49	72,22	7,18	89,44	4,47	94,44	2,63	11,071
	ALTA	0,00	0,00	66,67	11,55	63,33	2,89	71,67	2,89	81,67	2,89	98,33	2,89	15,714
	MEDIA	0,00	0,00	41,67	2,89	55,00	5,00	88,33	10,41	96,67	2,89	100,00	0,00	12,308
<i>Ipomoea purpurea</i>	BAJA	0,00	0,00	26,67	2,89	68,33	15,28	93,33	5,77	98,33	2,89	100,00	0,00	15,556
	X ± DE	0,00	0,00	45,00	5,78	62,22	7,72	84,44	6,36	92,22	2,89	99,44	0,96	14,526
	ALTA	0,00	0,00	23,33	2,89	41,67	2,89	51,67	2,89	73,33	2,89	98,33	2,89	27,857
	MEDIA	0,00	0,00	41,67	2,89	48,33	2,89	65,00	5,00	78,33	5,77	96,67	2,89	6,154
	BAJA	0,00	0,00	43,33	5,77	56,67	7,64	78,33	10,41	93,33	5,77	98,33	2,89	14,815
	X ± DE	0,00	0,00	36,11	3,85	48,89	4,47	65,00	6,10	81,66	4,81	97,78	2,89	16,275

Dado el gradiente de sensibilidad registrado en las especies estudiadas, como se mencionó anteriormente, se dividió a las especies en dos grupos, sensibles y tolerantes. De esta manera, pudo verse más claramente las respuestas diferenciales de cada grupo de especies, según si la aplicación de glifosato se realizó en un estadio temprano o tardío de crecimiento. Se realizaron GLM para evaluar la variación de la fitotoxicidad entre los grupos de especies. En la **aplicación temprana**, solo se encontraron diferencias significativas en el factor “Especies”, es decir entre el grupo de especies sensibles y tolerantes, no así según el nivel de exposición al glifosato de donde provenían las plántulas, en cada una de las dosis de glifosato aplicadas (Tabla 3.13; Figura 3.38; 3.39 y 3.40).

Tabla 3.13. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Los datos corresponden a la Prueba de Hipótesis tipo III del análisis GLM comparando la fitotoxicidad de las plántulas en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio temprano de crecimiento: cinco semanas post emergencia (aplicación temprana), cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5).

Pruebas de hipótesis tipo III – prueba		DOSIS 0,25X			
		numDF	denDF	F-valor	p-valor
1	Especies	1	68	6,41	0,0136
2	Exposición	1	68	0,47	0,4965
3	Especies: Exposición	1	68	0,01	0,9362
Pruebas de hipótesis tipo III – prueba		DOSIS 0,5X			
		numDF	denDF	Fvalor	p-valor
1	Especies	1	68	5,90	0,0178
2	Exposición	1	68	0,75	0,3883
3	Especies: Exposición	1	68	0,05	0,8288
Pruebas de hipótesis tipo III – prueba		DOSIS 1X			
		numDF	denDF	F-valor	p-valor
1	Especies	1	68	13,58	0,0005
2	Exposición	1	68	1,64	0,2041
3	Especies: Exposición	1	68	0,05	0,8314

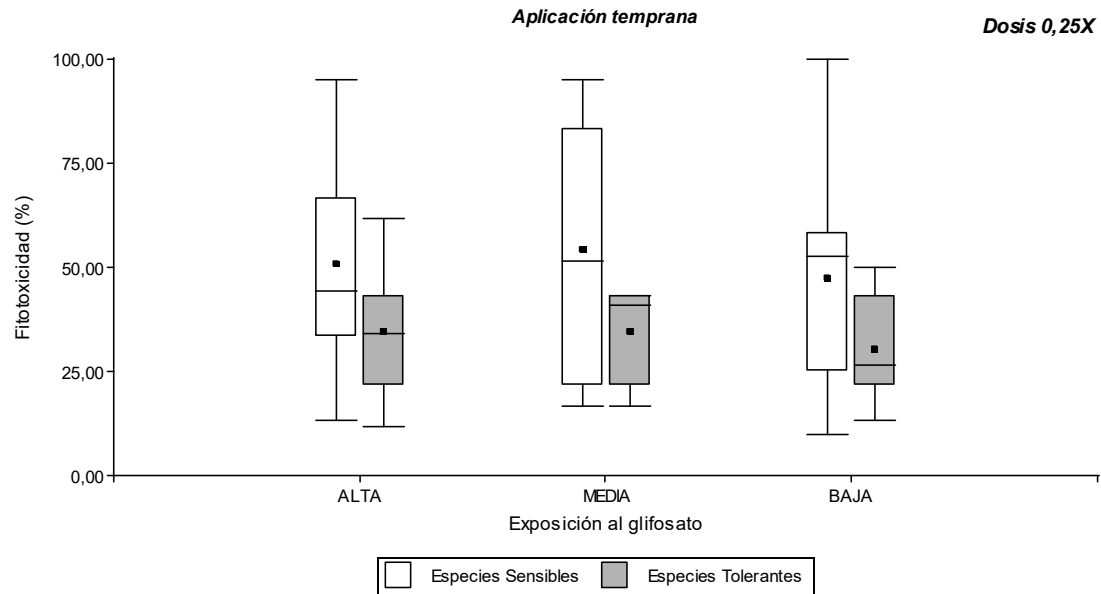


Figura 3.38. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

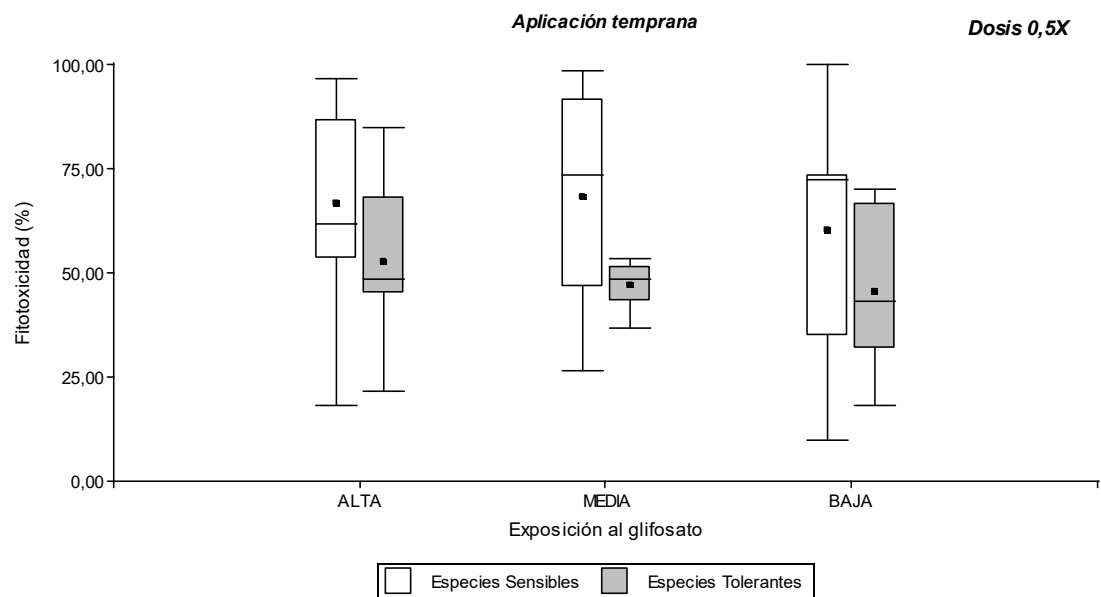


Figura 3.39. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato. Las especies

fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

Con una dosis superior del herbicida, 1X (la dosis utilizada en el campo), se observaron diferencias más notables en la respuesta de las plántulas a la pulverización con glifosato según el origen de las semillas (Figura 3.40). El grupo de especies sensibles sufrió una fitotoxicidad significativamente mayor respecto a las especies tolerantes ($F_{(1)} = 13,58$; $p = 0,0005$), independientemente del nivel de exposición histórico de glifosato donde se originaron las semillas (Tabla 3.13). Además, los efectos entre estos dos grupos de especies fueron más marcados cuando las semillas provenían de fragmentos con alta o media exposición a glifosato en relación con aquellas de fragmentos con baja exposición (Figura 3.40).

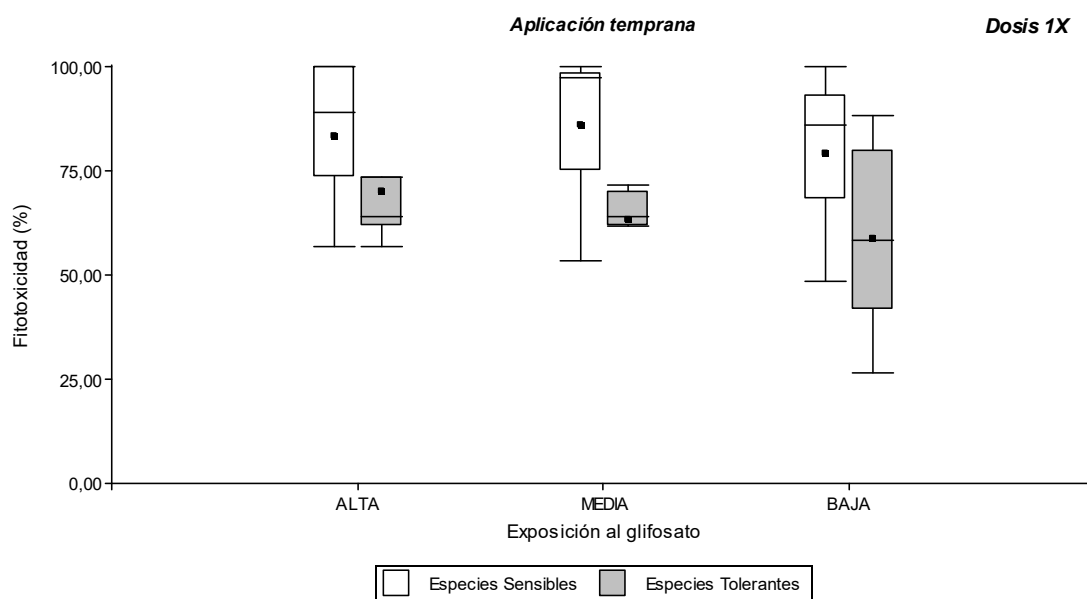


Figura 3.40. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

Luego de realizarse la pulverización sobre las plántulas en un **estadio tardío** de crecimiento, se comparó la fitotoxicidad del grupo de especies tolerantes respecto a la respuesta del grupo de especies sensibles, según el grado de exposición al glifosato. De esta manera, se pudo observar que la fitotoxicidad siempre mayor en las plántulas de las especies sensibles, encontrándose diferencias significativas en las respuestas en todas las dosis analizadas: 0,25X (Figura 3.41); 0,5X (Figura 3.42) y 1X (Figura 3.43) (Tabla 3.14).

Tabla 3.14. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Los datos corresponden a la Prueba de Hipótesis tipo III del análisis GLM comparando la fitotoxicidad de las plántulas en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio tardío de crecimiento: diez semanas post emergencia (aplicación tardía), cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5).

Pruebas de hipótesis tipo III - prueba			DOSIS 0,25X	
	gl	denDF	F-valor	p-valor
1 Especies	1	68	20,37	<0,0001
2 Exposición	1	68	0,01	0,9400
3 Especies: Exposición	1	68	0,82	0,3670

Pruebas de hipótesis tipo III - prueba			DOSIS 0,5X	
	gl	denDF	F-valor	p-valor
1 Especies	1	68	13,32	0,0005
2 Exposición	1	68	0,19	0,6625
3 Especies: Exposición	1	68	0,08	0,7827

Pruebas de hipótesis tipo III – prueba			DOSIS 1X	
	gl	denDF	F-valor	p-valor

1	Especies	1	68	11,7	0,0011
2	Exposición	1	68	0,65	0,4222
3	Especies: Exposición	1	68	0,07	0,7969

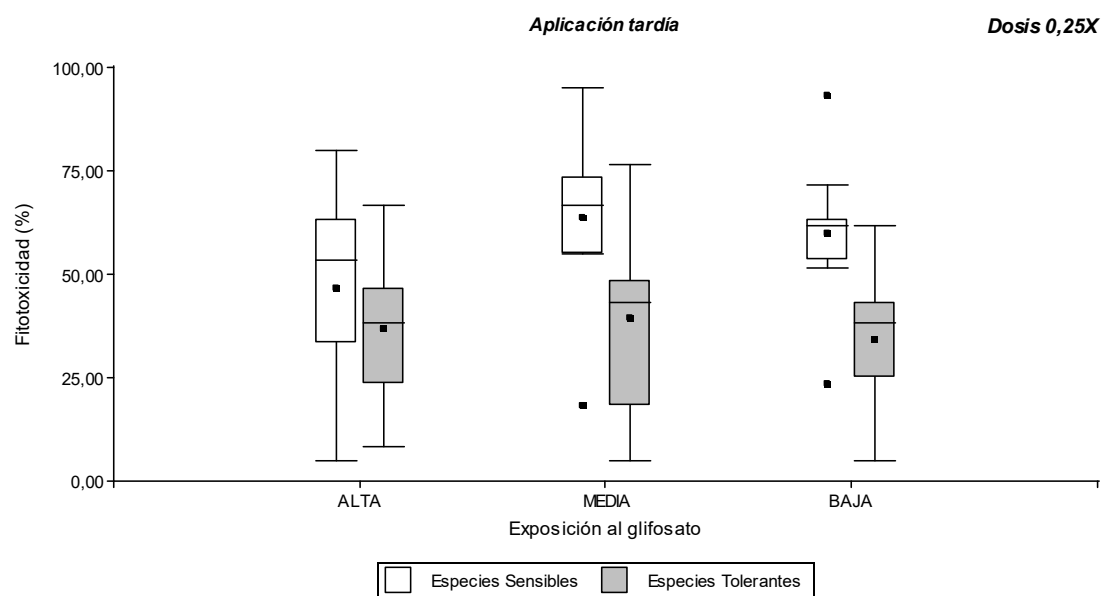


Figura 3.41. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

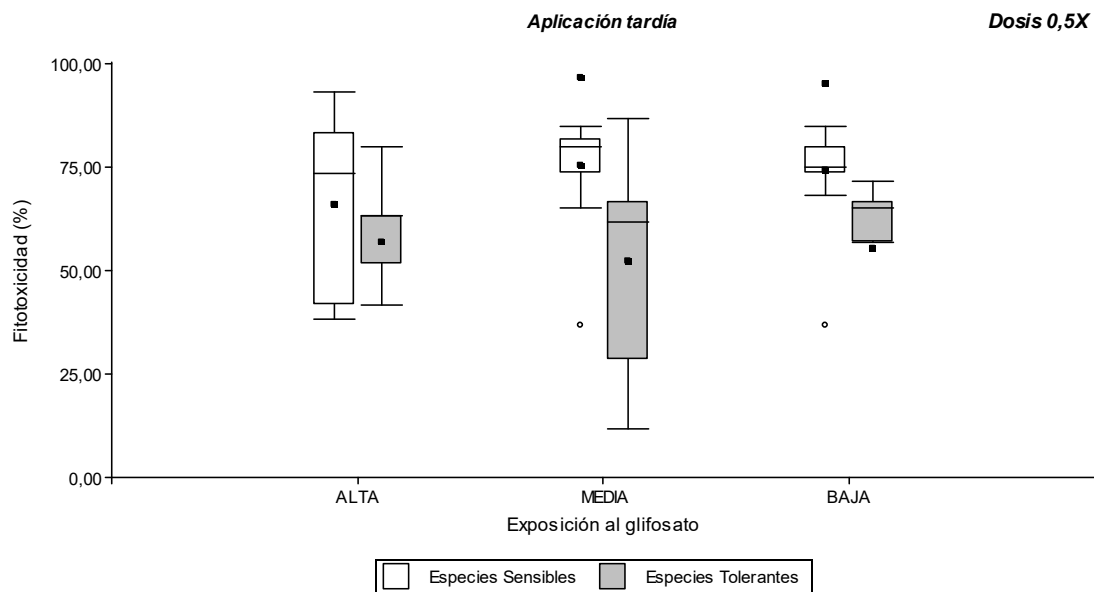


Figura 3.42. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

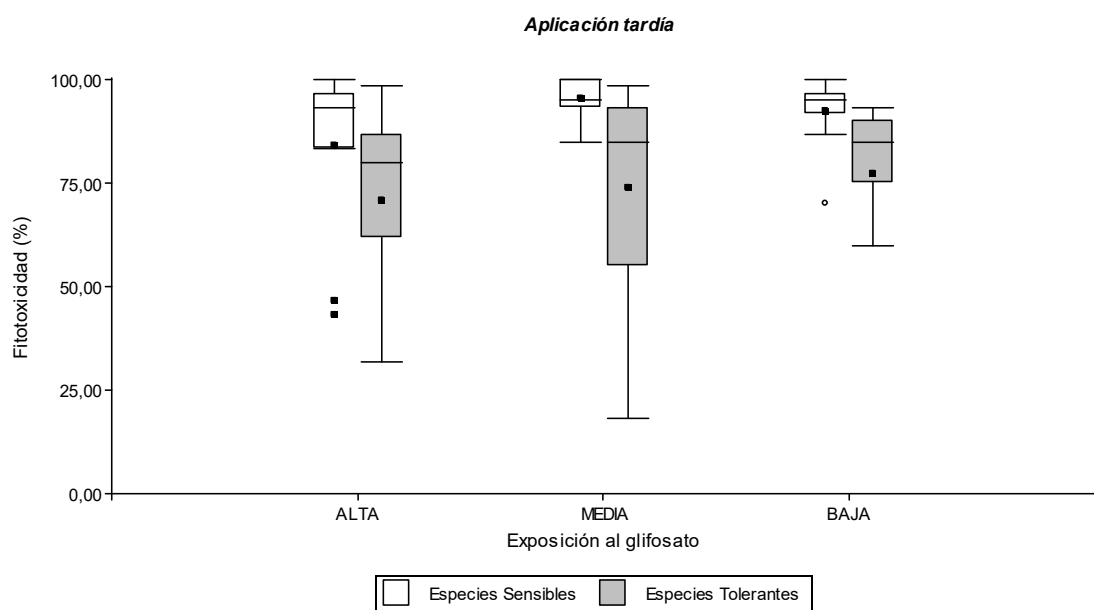


Figura 3.43. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas de 24 especies de plantas nativas no-blanco pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato. Las especies

fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5). Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía). Los valores fueron obtenidos 21 días post-tratamiento. Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato.

2.1 Especies sensibles al glifosato

Se consideraron las especies sensibles según los criterios ya mencionados en la subsección 1.2 del Análisis Cuantitativo del presente Capítulo, al igual que la selección de dosis para los próximos análisis. Para más detalle de la respuesta de las especies en cada una de las dosis empleadas, se puede consultar el Apéndice II.

2.1.1 Aplicación temprana a las especies sensibles

Las especies pertenecientes a este grupo (por presentar un IS en aplicación temprana del herbicida, menor a 5), se detallan en la subsección 1.3.1 del Análisis cuantitativo del presente Capítulo.

Analizando las respuestas de las especies sensibles según la dosis empleada en cada evento de pulverización, no se observaron diferencias significativas en la fitotoxicidad de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato, cuando fueron tratadas en un estadio temprano de crecimiento con una dosis de glifosato de: 0,25X ($F_{(2)}=0,3$; $p=0,740$; Figura 3.44), 0,5X ($F_{(2)}=0,53$; $p=0,590$; Figura 3.45), y 1X ($F_{(2)}=0,61$; $p=0,546$; Figura 3.46).

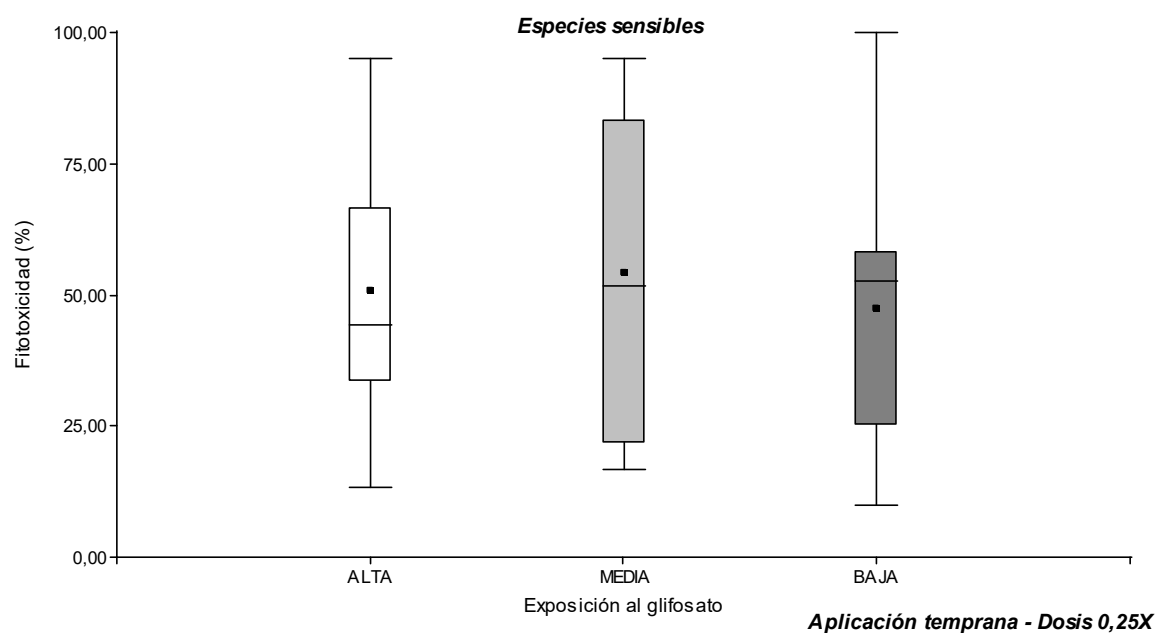


Figura 3.44. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blanco sensibles (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

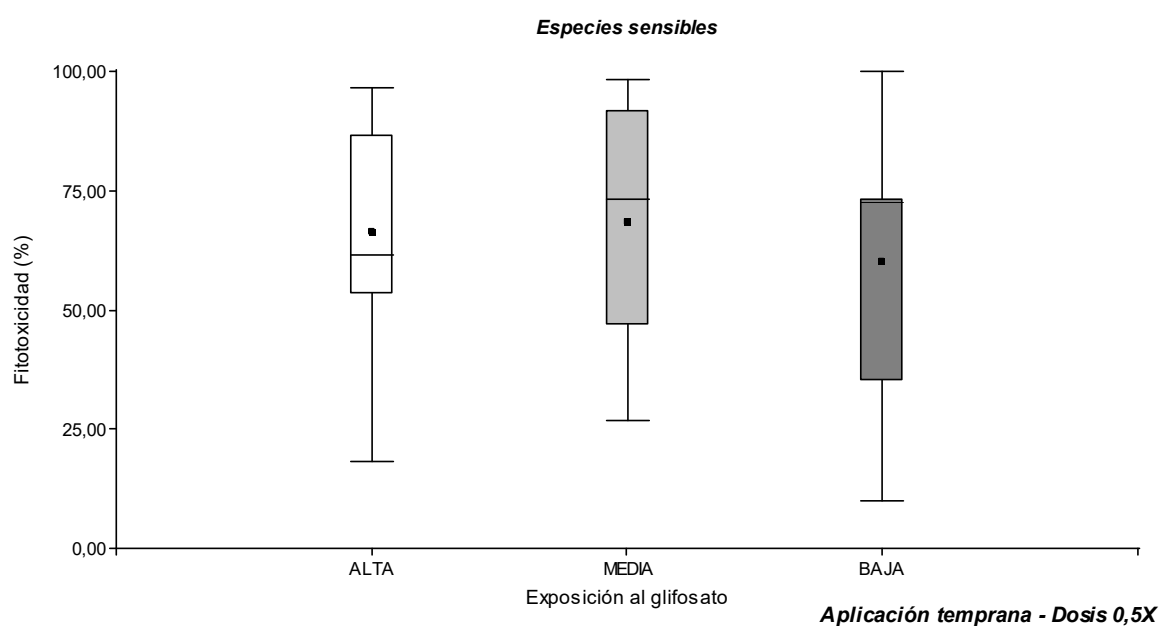


Figura 3.45. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blanco sensibles (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de

glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

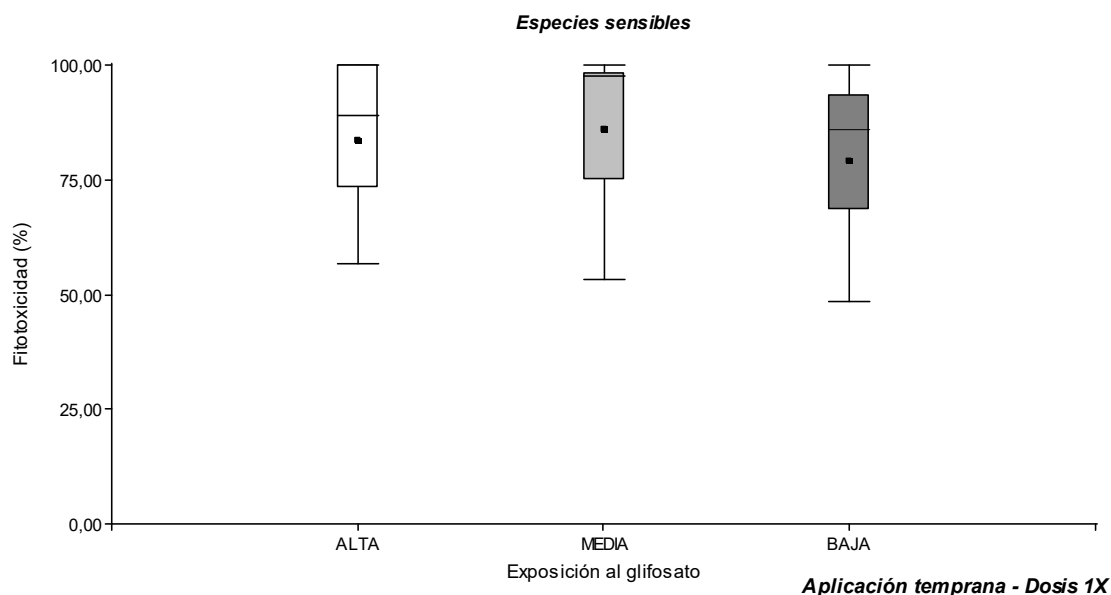


Figura 3.46. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blancas sensibles (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

2.1.2 Aplicación tardía a las especies sensibles

Las especies pertenecientes a este grupo (por presentar un IS en aplicación tardía del herbicida, menor a 5), se detallan en la subsección 1.3.2 del Análisis cuantitativo del presente Capítulo.

Analizando las respuestas de las especies según el momento de aplicación tardío, tampoco se observaron diferencias significativas en la fitotoxidad de las plántulas cuyas

semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas con una dosis de glifosato de: 0,25X ($F_{(2)}=2,41$; $p=0,107$; Figura 3.47), 0,5X ($F_{(2)}=0,96$; $p=0,393$; Figura 3.48), y 1X ($F_{(2)}=2,36$; $p=0,111$; Figura 3.49).

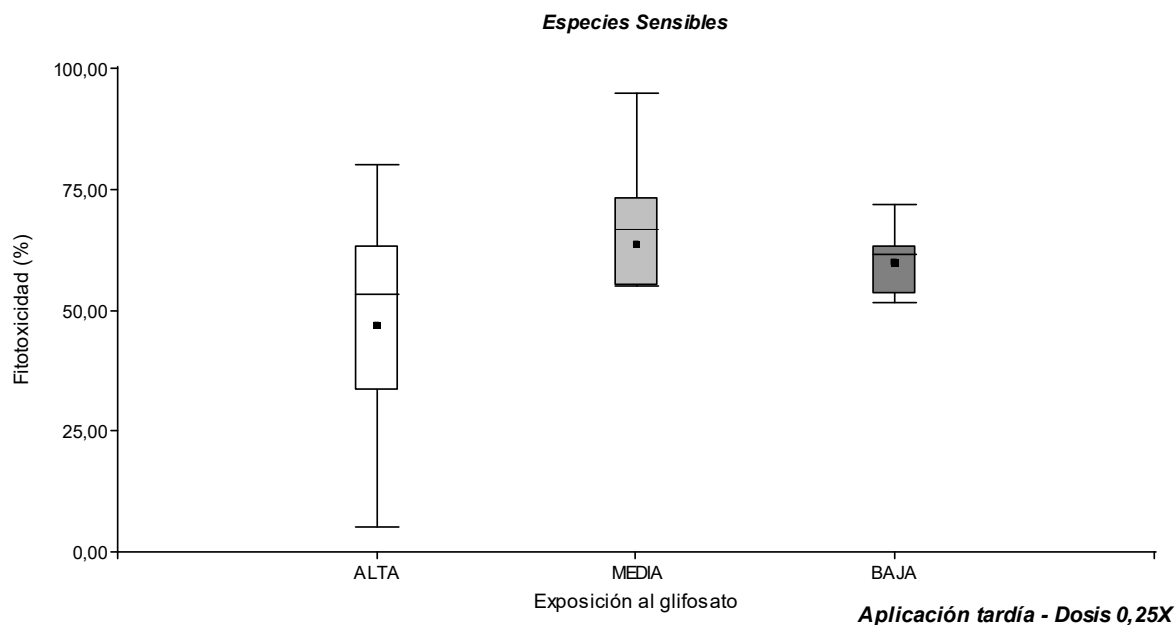


Figura 3.47. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blanco sensibles (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3$ l/ha). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

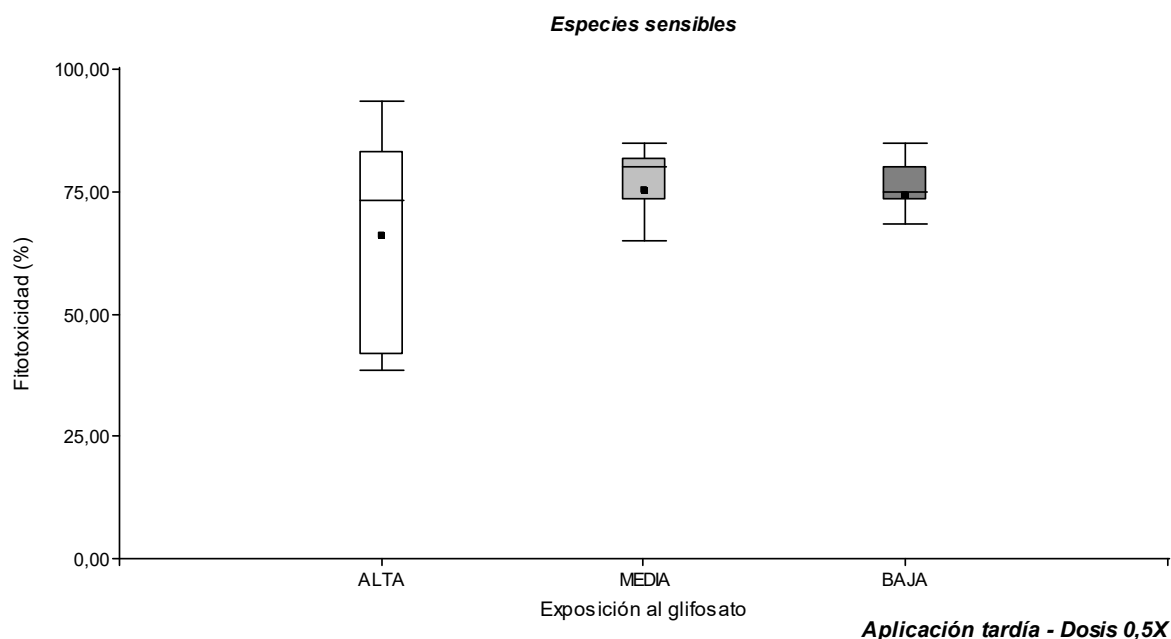


Figura 3.48. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blancas sensibles (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

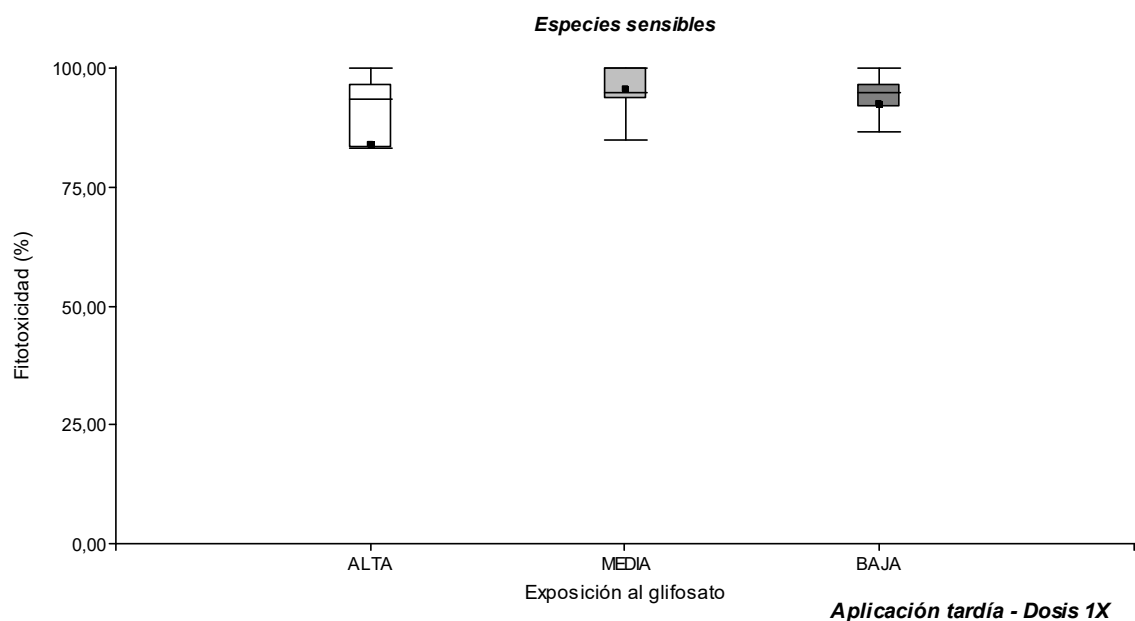


Figura 3.49. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blancas sensibles (IS menor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a

la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

2.2 *Especies tolerantes al glifosato*

2.2.1 *Aplicación temprana a las especies tolerantes*

En esta categoría quedaron agrupadas las siguientes especies, por presentar un IS en aplicación temprana del herbicida, mayor a 5: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*.

A la dosis de 0,25X, no se observaron diferencias significativas en términos de fitotoxicidad, entre las plántulas de las especies tolerantes según las semillas provenían de fragmentos de bosque con baja, media y alta exposición al glifosato, pulverizadas en un estadio temprano de crecimiento herbicida ($F_{(2)}=0,16$; $p=0,850$; Figura 3.50).

Tampoco se registraron diferencias significativas (según el grado de exposición al glifosato que tenían las plántulas) cuando se trató a los ejemplares con una dosis de 0,5X ($F_{(2)}=0,29$; $p=0,753$; Figura 3.51), y 1X de glifosato ($F_{(2)}=0,66$; $p=0,532$; Figura 3.52).

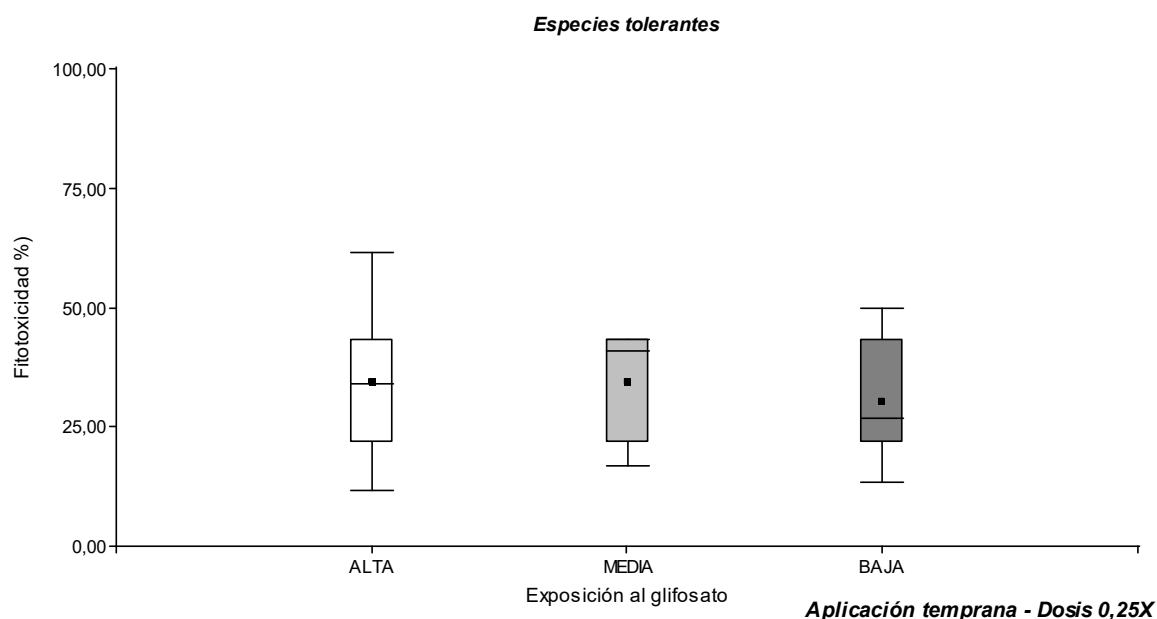


Figura 3.50. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato (X = 3 l/ha). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

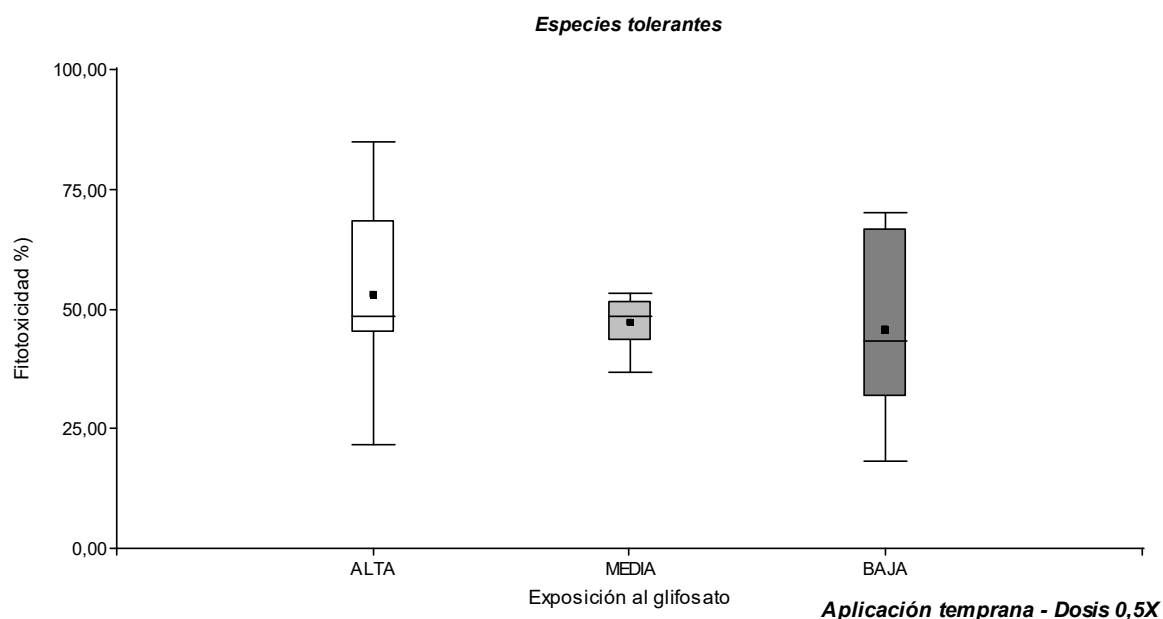


Figura 3.51. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no- blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato (X = 3 l/ha). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

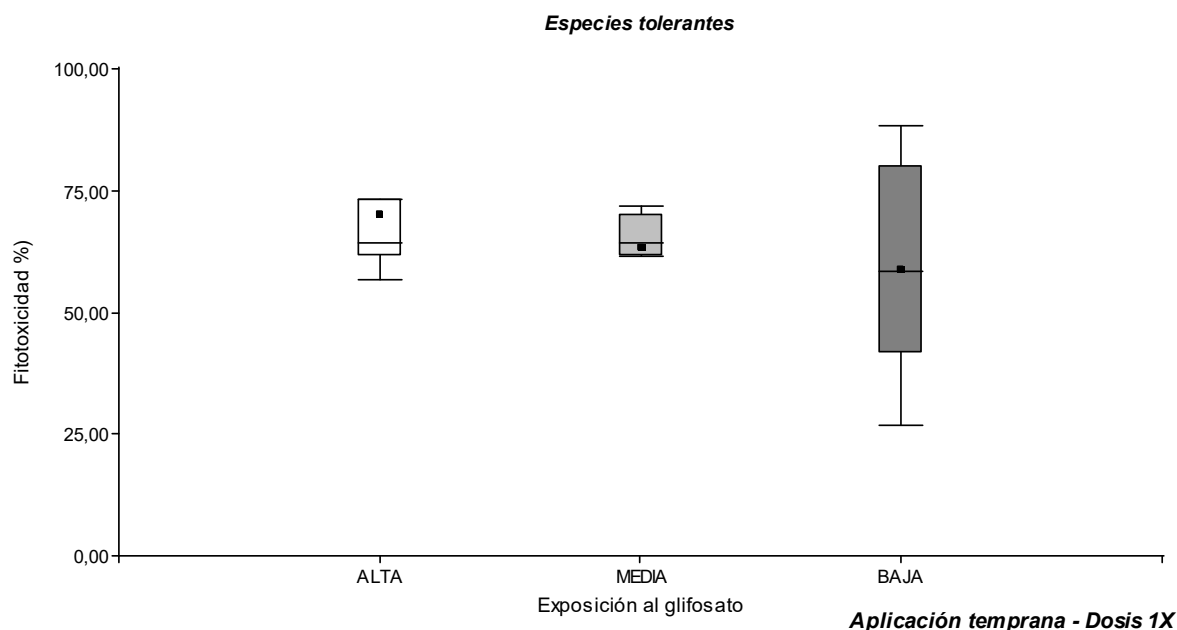


Figura 3.52. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas del grupo de especies nativas no- blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas cinco semanas post emergencia (aplicación temprana).

2.2.2 Aplicación tardía a las especies tolerantes

En esta categoría quedaron agrupadas las siguientes especies, por presentar un IS en aplicación tardía del herbicida, mayor a 5: *Amphilophium carolinae*, *Sida rhombifolia*, *Rivina humilis*, *Baccharis glutinosa*, *Setaria parviflora*, *Abutilon pauciflorum*, *Solanum pseudocapsicum*, *Iresine diffusa*, *Ipomoea purpurea*, *Sida spinosa*, *Dysphania ambrosioides*, *Sida dyctiocarpa* y *Malvastrum interruptum*.

Analizando las respuestas de las especies que resultaron tolerantes cuando se las pulverizó con glifosato en una etapa más avanzada de su desarrollo (10 semanas post-emergencia), no se observaron diferencias significativas en la fitotoxidad de las plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato cuando fueron tratadas con una dosis del herbicida de: 0,25X ($F_{(2)}=0,28$; $p= 0,757$; Figura 3.53), 0,5X ($F_{(2)}=0,17$; $p= 0,845$; Figura 3.54), y 1X ($F_{(2)}=0,28$; $p= 0,759$; Figura 3.55).

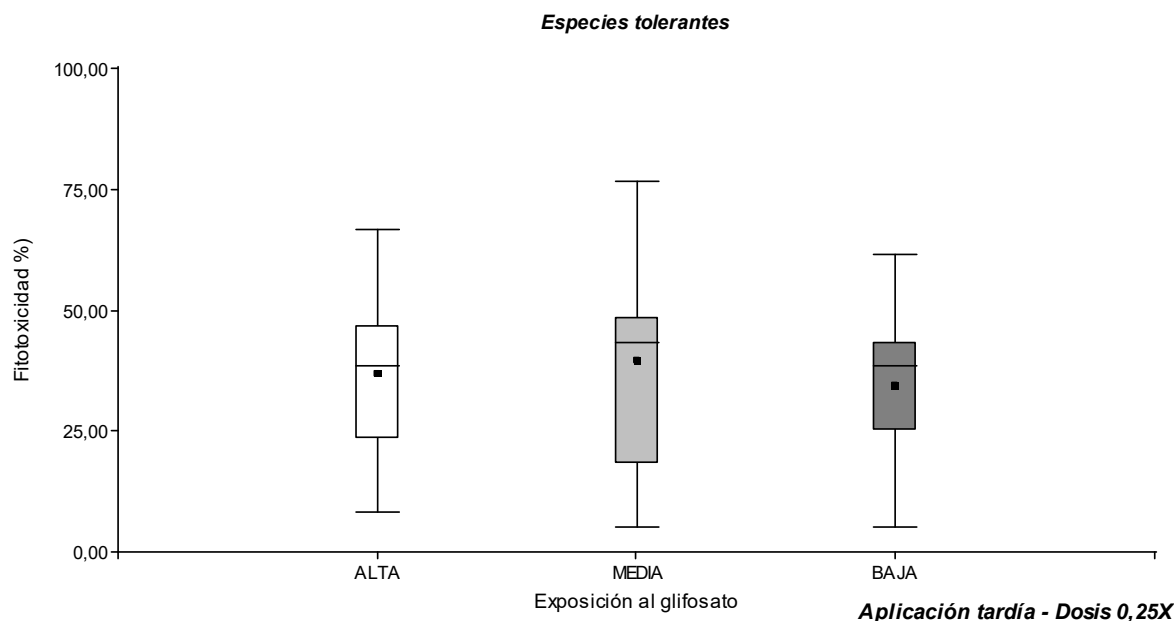


Figura 3.53. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no-blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,25X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).



Figura 3.54. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxicidad en plántulas del grupo de especies nativas no- blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 0,5X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores

a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

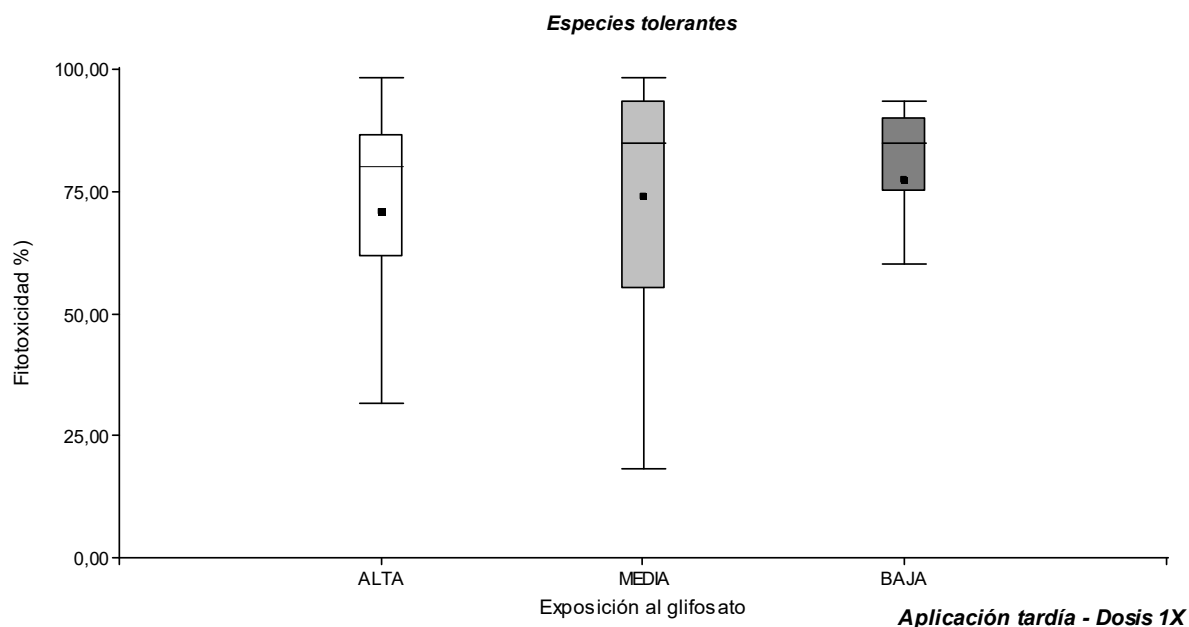


Figura 3.55. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Fitotoxidad en plántulas del grupo de especies nativas no- blanco tolerantes (IS mayor a 5), pulverizadas con una dosis de 1X de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$). Los datos corresponden al análisis cualitativo realizado 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre plántulas cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las plántulas fueron pulverizadas diez semanas post emergencia (aplicación tardía).

2.3 Selección de Modelos

Finalmente se realizó una selección de modelos lineales generales y mixtos (GLM) con el objetivo de encontrar el que mejor explicara las variaciones en la fitotoxidad registrada en el conjunto de 24 especies de plantas nativas no-blanco estudiadas. En los modelos se tuvieron en cuenta: la separación del conjunto de especies en dos grupos, especies sensibles y tolerantes, el nivel histórico de exposición al glifosato del fragmento de origen de las semillas (fragmentos con alta, media y baja exposición), y el estadio de crecimiento en el cual se pulverizaron las plántulas (efecto momento de aplicación, temprano

y tardío) con las dosis del herbicida consideradas en estos análisis. De esta manera, el modelo seleccionado que mejor explicaba la variación en la fitotoxicidad para el conjunto de 24 especies, fue el modelo completo con los tres factores (efectos fijos): Especies (divididas en dos grupos: sensibles y tolerantes), Nivel de exposición histórica al glifosato (solo con dos niveles: alto y bajo), y el Momento de aplicación (temprano y tardío). Este modelo mostró el valor más bajo de AIC (1270,47), y solo uno de los tres efectos fijos (“Especies”) resultó significativo (Tabla 3.15), y explicando el mayor porcentaje de variabilidad en este modelo ($F_{(1)} = 23,61$; $p < 0,0001$). Tal como se obtuvo para la variable reducción del crecimiento, en este caso con una dosis tan baja de glifosato como 0,25X, las especies sensibles sufren los valores más altos de fitotoxicidad, respecto a las especies tolerantes, independientemente del momento de aplicación del herbicida y del origen de las semillas. Este efecto se ve acrecentado con el gradiente de dosis, pudiendo encontrarse daños más severos en las especies sensibles conforme la dosis de glifosato se incrementa.

Tabla 3.15. Efectos del glifosato según valoración cualitativa: Los datos corresponden al análisis GLM comparando la fitotoxicidad de las plántulas en 24 especies de plantas nativas no-blanco que fueron pulverizadas con dosis crecientes de glifosato en un estadio temprano y tardío de crecimiento (momento de aplicación): cinco semanas post emergencia (aplicación temprana) y diez semanas post emergencia (aplicación tardía), cuyas semillas provenían de fragmentos con alta, media y baja exposición al glifosato. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 5) y Especies tolerantes (IS mayor a 5; confrontar Tabla 3.12). Se muestra el modelo que resultó seleccionado según los criterios de AIC y BIC más bajos.

Medidas de ajuste del modelo						
N		AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
144		1270,47	1290,96	-628,24	21,38	0,16
Pruebas de hipótesis tipo III						
		gl	denDF	F-valor	p-valor	
1	Especies	1	138	23,61	<0,0001	
2	Exposición	1	138	0,44	0,5093	
3	Momento	1	138	1,95	0,1649	
4	Especies: Exposición	1	138	0	0,9512	
5	Especies: Momento	1	138	0,07	0,7862	
6	Exposición: Momento	1	138	0,44	0,5094	

Fitotoxicidad - Medias ajustadas y errores estándares para Especies

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Especies	Medias	E.E.	
Sensibles	53,23	2,44	A
Tolerantes	34,53	3,11	B

DISCUSIÓN

1. *Efectos del glifosato en la supervivencia de las plantas nativas no-blanco*

En todas las especies estudiadas se observaron efectos del glifosato, incluso en las dosis más bajas ($\frac{1}{4}$ de la aplicada habitualmente en el campo), equivalentes a las dosis que podrían llegar a las comunidades naturales de los fragmentos de bosques por deriva de las pulverizaciones en los cultivos adyacentes. De esta manera, todas las especies de plantas nativas del bosque tratadas, mostraron tener algún grado de sensibilidad al glifosato, en términos de fitotoxicidad y reducción de crecimiento.

Es importante destacar las diferencias en las tendencias encontradas, cuando se separan las plantas de acuerdo al nivel histórico de exposición al glifosato (origen de las semillas de las especies, según categorías de tamaño del fragmento): se observa que, si bien el mismo patrón en que los efectos son más grandes a medida que se aumenta la dosis y cuanto más temprana es la aplicación, la mortalidad es menor en las plantas originadas de semillas de un fragmento chico (mayor exposición histórica al glifosato) en comparación a los medianos y grandes (menor nivel de exposición al glifosato), para cualquiera de las dosis aplicadas, incluso las más altas. Los efectos del glifosato se observan rápidamente, en los primeros días después de su aplicación, pero se hacen más evidentes con el paso del tiempo, lo cual puede ser explicado por el carácter sistémico del glifosato, el cual puede seguir produciendo efectos incluso 20 días después de su aplicación (Marrs et al., 1989). Los síntomas de fitotoxicidad observados en las plántulas tratadas (clorosis, necrosis, deformaciones, marchitez y menor producción de hojas respecto al control), podrían ser explicados por el modo de acción del glifosato. El principio activo del glifosato (N-fosfonometil glicina) se distribuye con rapidez por toda la planta, inhibiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos, e interfiriendo en otros procesos metabólicos vegetales (Cuhra,

2016). De esta manera, el glifosato retarda la etapa de emergencia de la plántula, provoca deformaciones en las hojas primarias (cotiledones), aumenta la formación de antocianinas en los cotiledones (rasgos de falta de luz), promueve un desarrollo desproporcionado de la raíz, produce senescencia tardía de los cotiledones (retraso en el crecimiento de las plantas) y genera deformación de las hojas, en comparación a las plantas donde no se aplica el glifosato (Civeira, 2012). Además, los residuos del glifosato o su deriva pueden afectar la absorción de Fe y Mn en las plantas no objetivo, resultando en deficiencias nutricionales en las plantas y en menores posibilidades de crecimiento de la vegetación. Las partículas de glifosato pueden unirse a los metales Fe y Mn, y formar complejos glifosato-metal poco solubles en los tejidos vegetales y o en la rizósfera de las plantas (Civeira, 2012).

Los valores de IS obtenidos para las especies tratadas confirman un gradiente de sensibilidad al glifosato, tal como se registró mediante el análisis visual. Estas diferencias de sensibilidad al herbicida podrían determinar la supervivencia y la abundancia de estas especies en los fragmentos de bosque estudiados. La especie más sensible (en ambos estadios de crecimiento) fue *Bidens subalternans*, ya que una dosis muy baja del herbicida (incluso menor a $\frac{1}{4}$ de la que se utiliza en el campo) redujo el 50% de su biomasa aérea. Esta sensibilidad al glifosato ya se había registrado para otras especies del género *Bidens* (Lacerda y Victoria Filho, 2004).

2. Efectos del glifosato según el estado de desarrollo de las plantas

El presente estudio muestra que las plántulas más jóvenes fueron más afectadas por el glifosato que aquéllas de mayor tamaño. Estos resultados muestran la misma tendencia encontrada por Riemens et al. (2008) en un experimento con plántulas (de distintas edades) de cuatro especies (*Chenopodium album*, *Stellaria media*, *Poa annua* y *Echinochloa crus-galli*). González-Torralva et al. (2010) estudiaron la susceptibilidad diferencial al glifosato entre especies del género *Conyza*, las cuales son consideradas malezas en más de 40 cultivos en 70 países (Holm et al., 1997). Estos autores (Holm et al., 1997) observaron que, dentro de las distintas especies de *Conyza*, la sensibilidad al glifosato se redujo conforme aumentaba el estadio de crecimiento, lo cual podría ser un factor limitante para la eficacia de los tratamientos. Por otro lado, las investigaciones realizadas por Koger et al. (2004) y Shrestha et al. (2007) confirman que *Conyza canadensis* presentó mayor sensibilidad al glifosato en el estadio de roseta comparado con estadios de crecimiento más desarrollados,

tal como encontraron González-Torralva et al. (2010) para *Conyza bonariensis*, donde el valor de RC_{50} aumentó 7,5 veces en el estadio de floración con respecto a las plantas tratadas en el estadio de roseta. En el mismo sentido, diversos estudios realizados en invernadero también han demostrado que muchas especies en estado de plántula son más sensibles a los herbicidas que en estadios de crecimiento más avanzados (Boutin et al., 2000; Zwerger y Pestemer, 2000).

En el presente trabajo, los valores de RC_{50} fueron superiores en las especies cuyas plántulas se pulverizaron en un estadio tardío del crecimiento, independientemente si las semillas que le dieron origen provenían de fragmentos con alto, medio y bajo nivel de exposición histórica al glifosato.

Es importante destacar, en base a los resultados obtenidos, que las poblaciones de especies tolerantes que viven en fragmentos de bosque con baja exposición al glifosato, cuando son pulverizadas con glifosato en una etapa temprana de su desarrollo, sufren una mayor reducción del crecimiento respecto a aquellas poblaciones de las mismas especies que viven en relictos de bosque nativo de menor área, y por lo tanto con un elevado grado de exposición al glifosato. Esto sugiere que los biotipos que viven en sitios con alta exposición al glifosato estarían siendo seleccionados y, de esta manera, su respuesta sería menos pronunciada en términos de reducción de biomasa, respecto a aquellos biotipos (de una misma especie) que viven en fragmentos de bosque de mayor área y por lo tanto, con menor grado de exposición a la deriva de glifosato utilizado en la matriz de cultivo.

Se conoce que el modo de acción del glifosato incluye efectos generales, por ejemplo, la inhibición de la fotosíntesis y la interrupción de la síntesis de aminoácidos. Antes de que el ingrediente activo del herbicida llegue al sitio de acción dentro de las plantas (como ya se explicó más arriba), éste debe llegar a la superficie de las plantas, penetrar en las hojas o las raíces, debe ser translocado dentro de las plantas sin afectar todos los módulos a la vez, y debe permanecer activo durante un período suficiente de tiempo para alcanzar la eficacia esperada (Boutin et al., 2004; Hess, 1987). Una vez que el glifosato llega a la superficie foliar, existen diferentes factores fisiológicos que contribuyen a la reducción del transporte del herbicida al sitio de acción. Luego de una adecuada retención foliar, y debido a su comportamiento hidrofílico, la barrera que debe vencer el glifosato para su absorción es la cutícula, conformada por ceras epicuticulares y cuticulares (García-Torres y Fernández-Quintanilla, 1989). La estructura y composición química de la cutícula muestra variaciones entre las diferentes especies y, dentro de una especie determinada, varía, además, en función

de la edad de la hoja. A medida que aumenta la edad existe un incremento en la deposición de los diferentes compuestos químicos de la cutícula provocando, en la hoja, una reducción en la absorción de compuestos (Hull et al., 1975). En algunas especies, se encontró que la mayor tolerancia a los herbicidas era consecuencia de una mayor cantidad de ceras superficiales, las que bloqueaban la absorción (Dellaferrera, 2013).

Por lo tanto, se postula que la diferencia de sensibilidad entre plantas jóvenes y mayores podría deberse a las diferencias de la cutícula en su composición química y estructura (Viougeas et al., 1995). Estas características determinan la permeabilidad de la cutícula a los agroquímicos y generan las diferencias en la sensibilidad a los herbicidas (Riemens et al., 2008). Por lo tanto, el momento de la etapa de desarrollo de las plantas no blanco en que se aplica el glifosato en la matriz de cultivo juega un papel fundamental en la determinación de la sensibilidad de las especies al herbicida (Marrs et al., 1991a; Ruiter et al., 2000).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo para un mismo conjunto de plantas y para diferentes estadios de crecimiento, tienden a apoyar la hipótesis que las plantas en estadios tempranos de desarrollo serían más susceptibles a la deriva de los herbicidas. Esta conclusión tiene consecuencias de amplio alcance para la gestión de los ambientes naturales adyacentes a los cultivos, puesto que implica que los nuevos individuos de algunas especies tendrán menos posibilidades de sobrevivir en esos ambientes. Por lo tanto, incluso si individuos ya establecidos de especies perennes no se vieran afectados directamente por la deriva del herbicida, las especies podrían extinguirse localmente, ya que puede haber aumento de la mortalidad de los renovales como resultado de la deriva de herbicidas (Marrs et al., 1991a). Esto podría ser una de las principales razones por la que la flora de los márgenes de campos cultivados está, generalmente, empobrecida (Marshall, 1987).

3. *Efectos de las dosis subletales de glifosato*

Los resultados aquí presentados, muestran que las especies tratadas fueron afectadas significativamente por dosis menores a la habitual utilizada en el campo y, tal como se registró en trabajos previos (Kleijn y Snoeijs, 1997), los efectos de las dosis bajas de glifosato debido a la deriva de los productos agroquímicos, producirían el deterioro de la vegetación de los márgenes de los campos cultivados. En estos casos, las plantas perennes

pueden sobrevivir durante el año en el que la aplicación se llevó a cabo, pero no pueden acumular reservas suficientes para sobrevivir el invierno siguiente, lo cual resulta perjudicial para la riqueza botánica de los márgenes de los campos cultivados (Kleijn y Snoeijs, 1997).

Los impactos más importantes de los herbicidas son, sin duda, los efectos letales sobre las plantas, cambiando la composición y la diversidad de las especies, pero también los efectos subletales, mediante la modificación del desarrollo, el crecimiento y la morfología de las plantas (Boutin, 1999). Las dosis subletales de la mayoría de los herbicidas pueden afectar negativamente la vida silvestre a través de la reducción de fuentes de alimento y de la diversidad necesaria para sobrevivir y reproducirse (Freemark y Boutin, 1995). Las modificaciones en la composición de especies de plantas en los relictos de bosque rodeados por matrices agrícolas donde se utilizan frecuentemente herbicidas, se ha documentado bien en algunas regiones, tales como en Europa (Marrs et al., 1989) y en Canadá (Boutin y Jobin, 1998; Jobin et al., 1997).

El impacto del glifosato en la sucesión ecológica boscosa fue estudiado por Bell y colaboradores (1997) en bosques de Canadá. Se encontró que el uso de este herbicida disminuía la cobertura vegetal de árboles deciduos, arbustos y helechos. En el caso de bosques de coníferas, encontraron que el glifosato reducía la vegetación leñosa y herbácea (Bell et al., 1997). Es decir, ejercía un impacto en la composición y estructura de estos bosques. Se han registrado, además, cambios en la fenología de las plantas debido al efecto del glifosato. Un grupo de investigación del Reino Unido, estudió los impactos del glifosato y otros herbicidas en la vegetación de bosques marginales, barreras arbustivas y campos marginales que habían sido expuestos a estos plaguicidas en los últimos tres años, una vez por año (Marrs et al., 1989). Se analizaron los efectos de dosis subletales en la productividad de las especies, los patrones de floración, producción de semillas, variabilidad de semillas y la invasión de nuevas especies en estos espacios. Se encontró que todas las especies estudiadas habían sido impactadas negativamente por la deriva de dosis subletales provocada durante las aplicaciones hechas con herbicidas (Mars et al., 1989). Pero el comportamiento de cada especie fue distinto, dependiendo de la estructura de la comunidad vegetal en la que se encontraban (Mars et al., 1989).

Es así, por lo tanto, que el incumplimiento de evaluar de manera adecuada y regular los efectos de los herbicidas en organismos no-blanco, puede tener importantes implicancias ecológicas para la supervivencia de las plantas, la producción de semillas, la reposición del banco de semillas y la composición de especies; no sólo de los productores primarios, sino

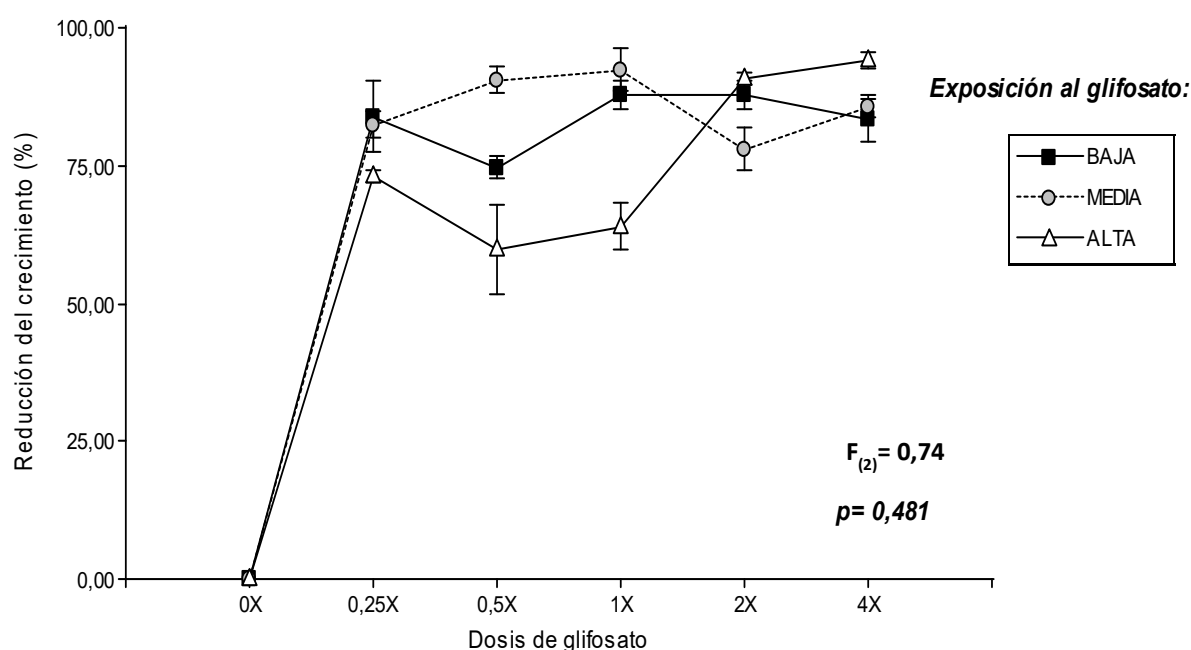
también en especies de otros niveles tróficos (Boutin et al., 2013). La falta de información sobre los efectos de la deriva de biocidas sobre la flora y la fauna no-blanco, hace que sea difícil que los agricultores adopten las medidas adecuadas para proteger la vida silvestre (Kleijn y Snoeiijing, 1997).

APÉNDICE I

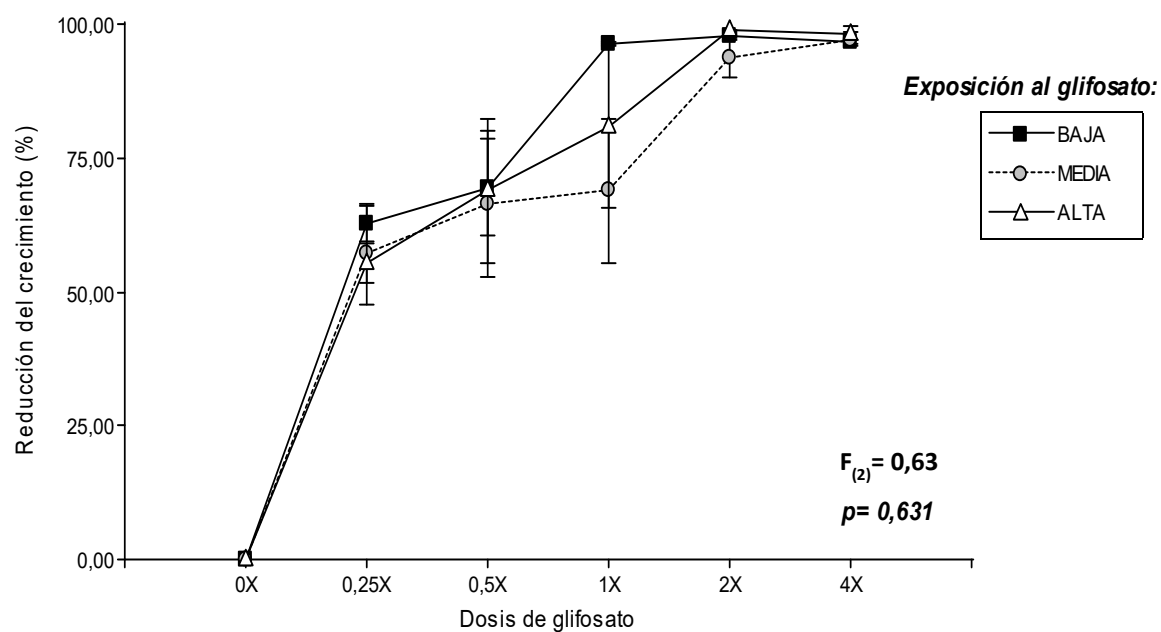
Curvas de dosis-respuesta para cada una de las 24 especies tratadas en este capítulo. Los datos corresponden a los porcentajes de reducción de crecimiento (RC) de cada especie cuando fue pulverizada con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$: 2100 g ai/ha). Reducción del crecimiento: diferencia de peso seco entre las plántulas tratadas con cada dosis y las plántulas sin aplicación de glifosato. Las observaciones fueron realizadas 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre las plántulas (ver subsección de Materiales y Métodos del Capítulo I). Las especies fueron ordenadas en orden decreciente según su sensibilidad al glifosato (considerando su valor de IS). En cada gráfico se muestran los valores de F y p respectivos para el análisis de ANCOVA realizado a fin de comparar la respuesta de cada especie a las dosis de glifosato, según si las semillas provinieran de fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición al glifosato. Para cada especie, se muestran los gráficos resultantes cuando el glifosato fue aplicado a las 5 o a las 10 semanas post-emergencia de las plántulas (aplicación temprana y tardía, respectivamente).

A. APLICACIÓN TEMPRANA

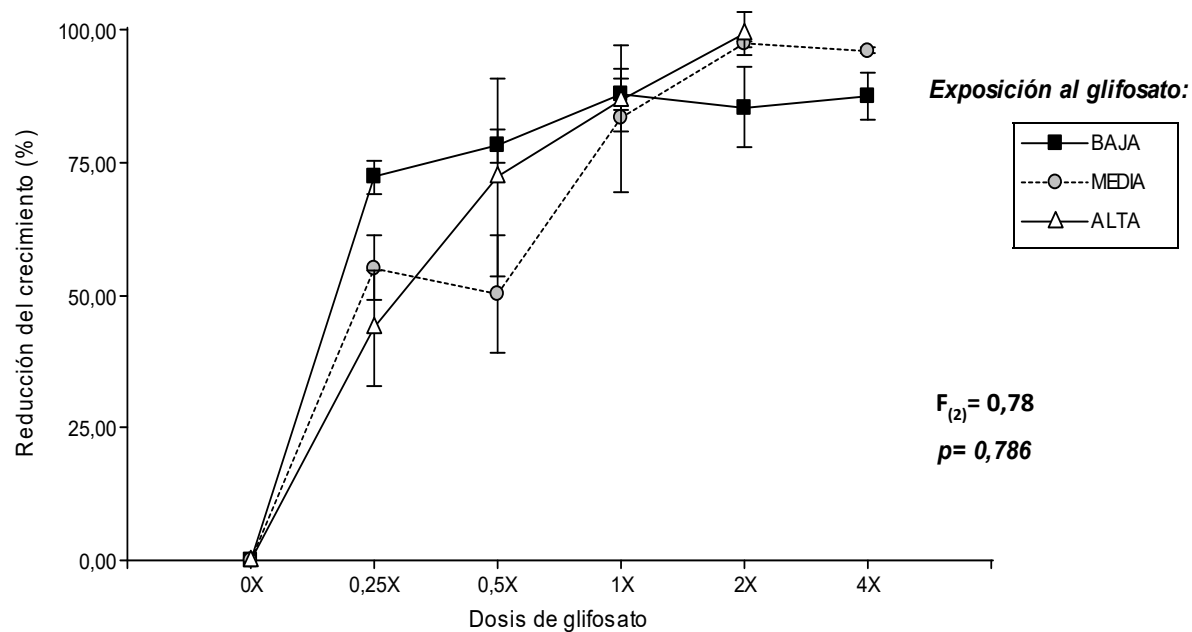
1. *Bidens subalternans*



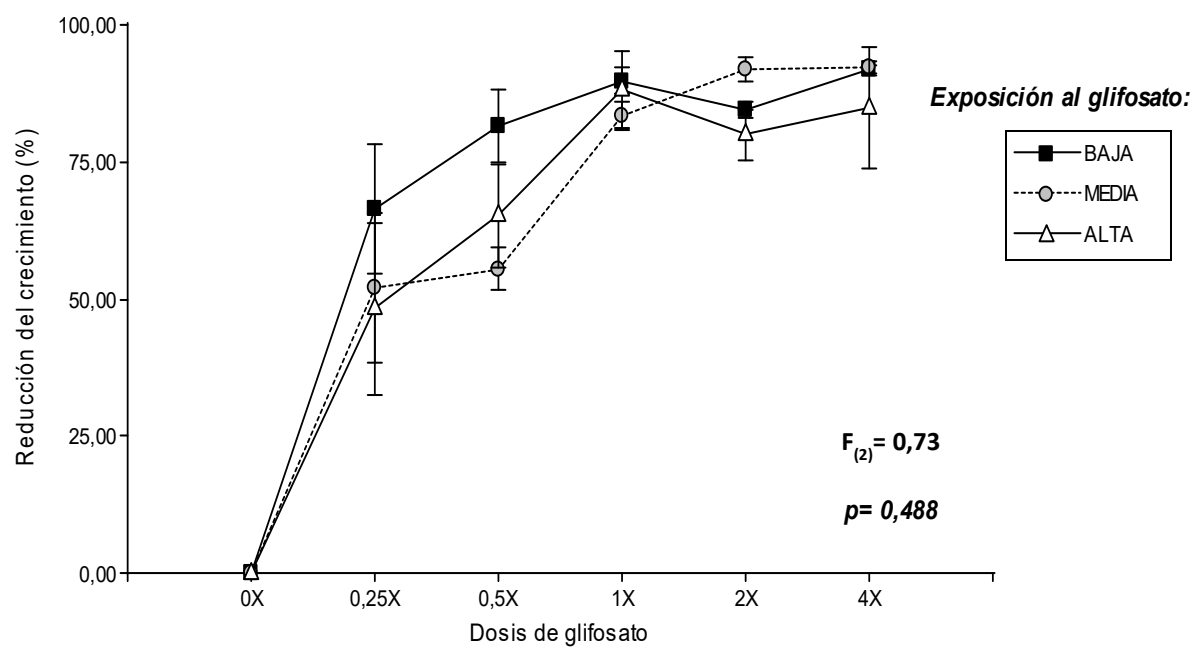
2. *Cyperus* sp.



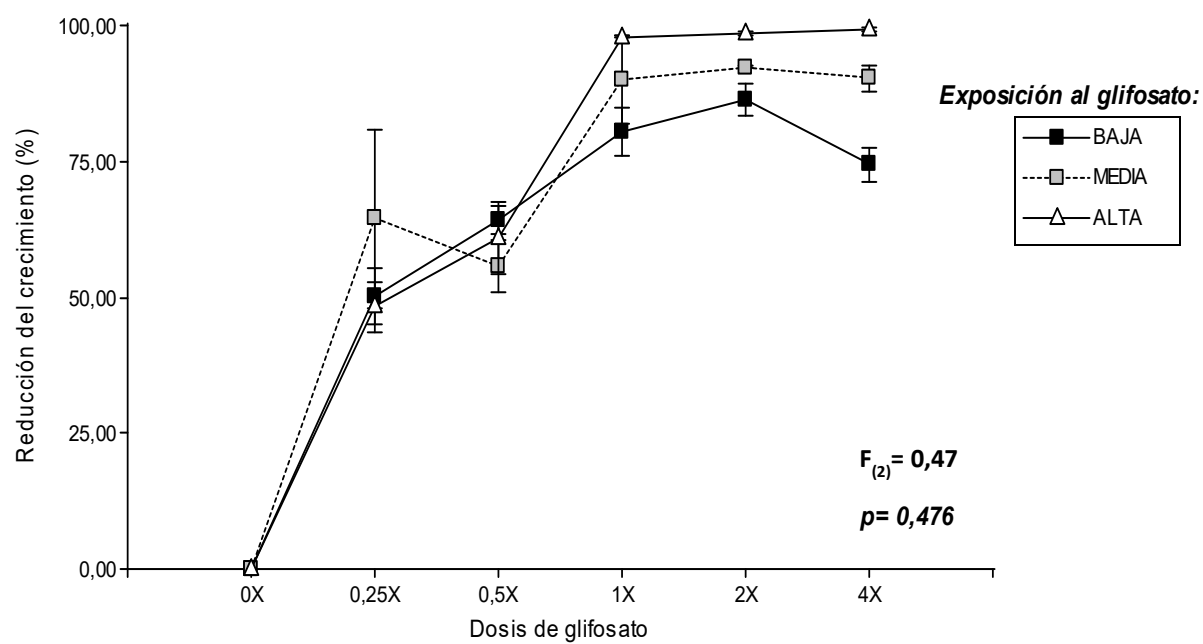
3. *Baccharis glutinosa*



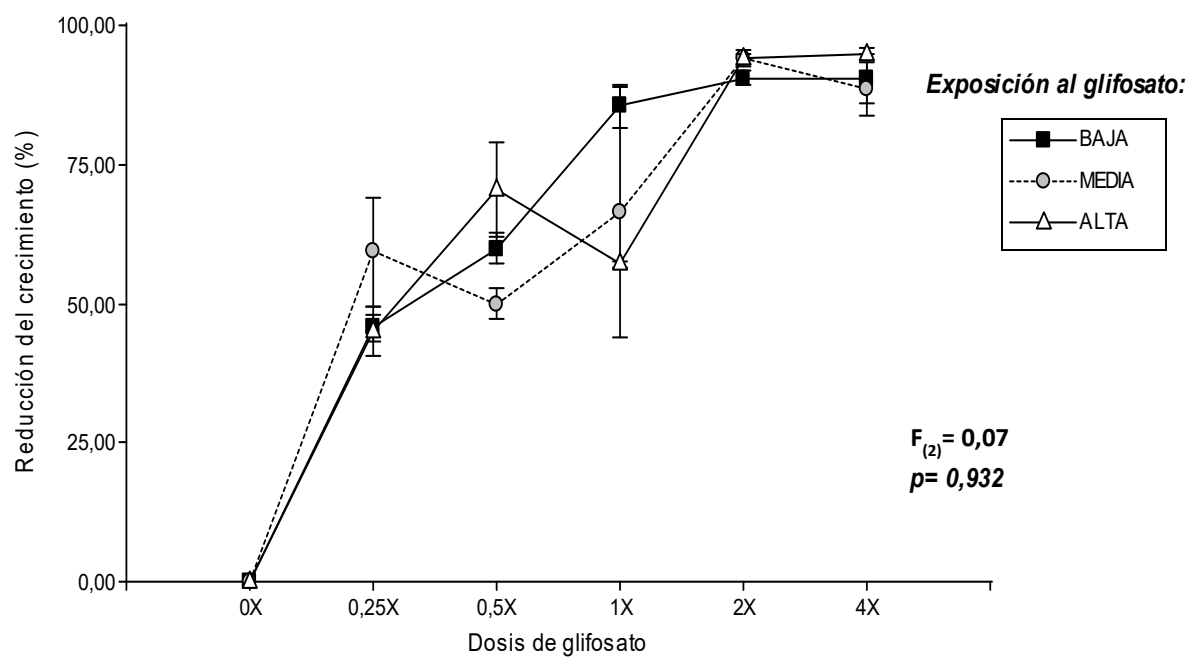
4. *Paspalum malacophyllum*



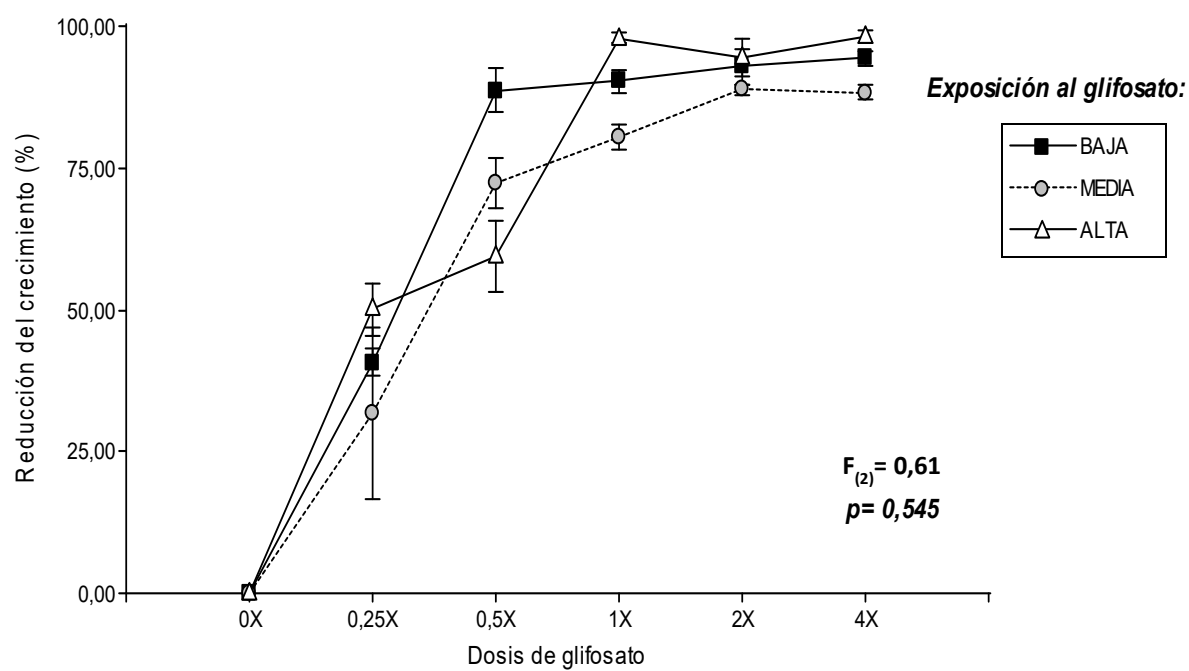
5. *Gouinia latifolia*



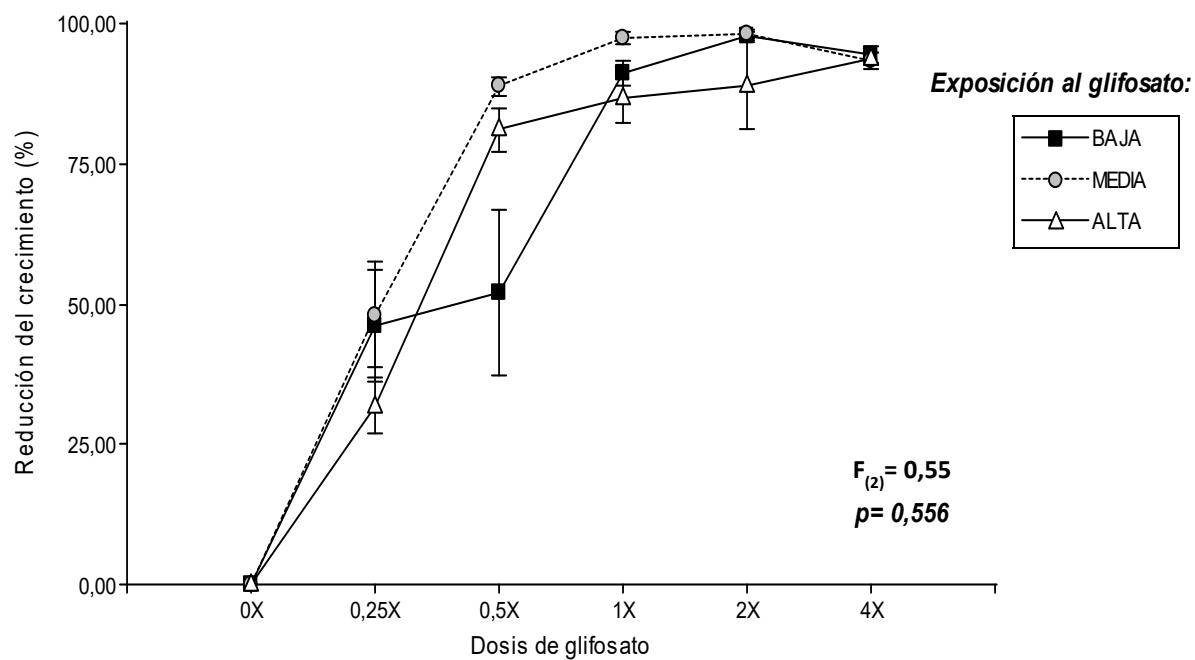
6. *Exhalimolobos weddellii*



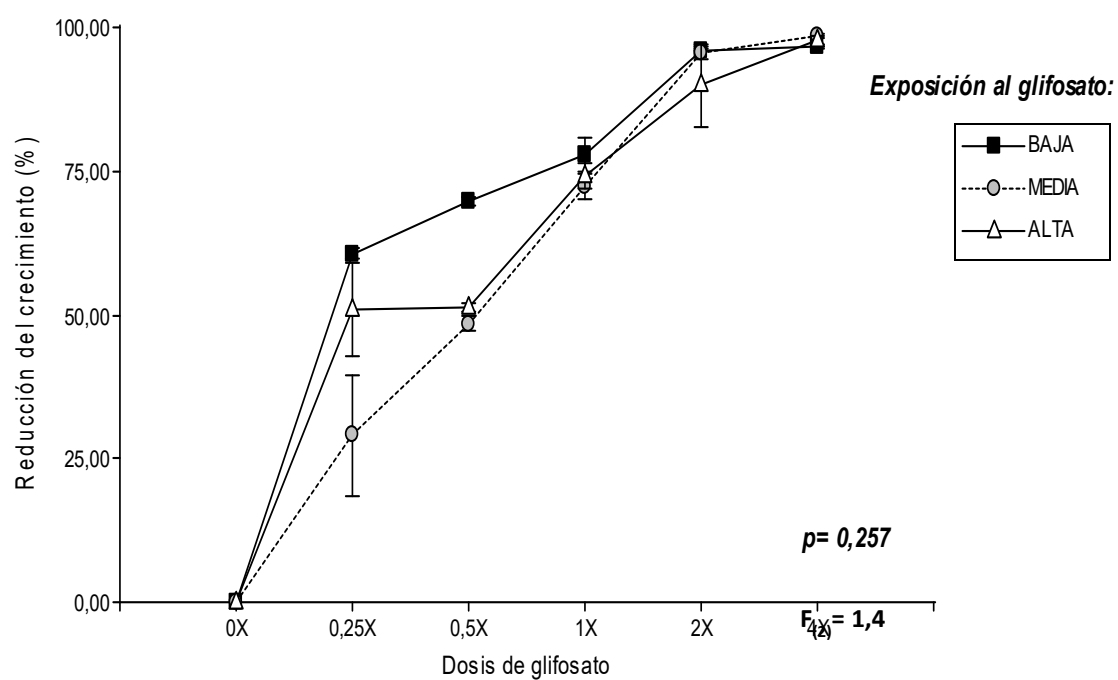
7. *Setaria hunzikeri*



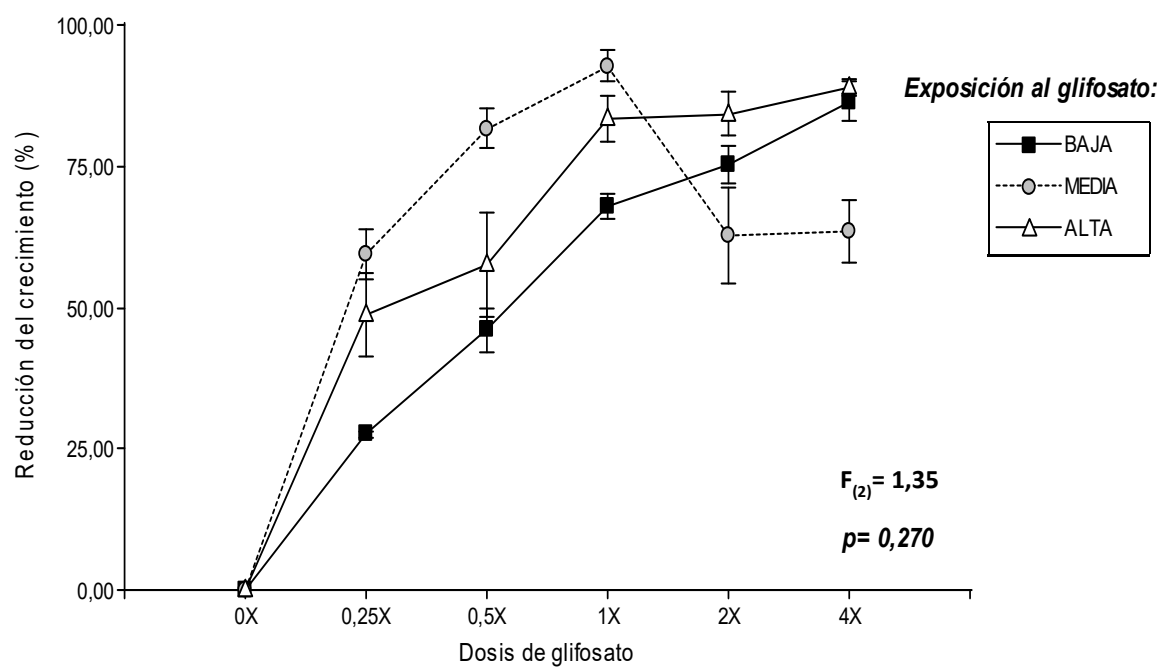
8. *Setaria parviflora*



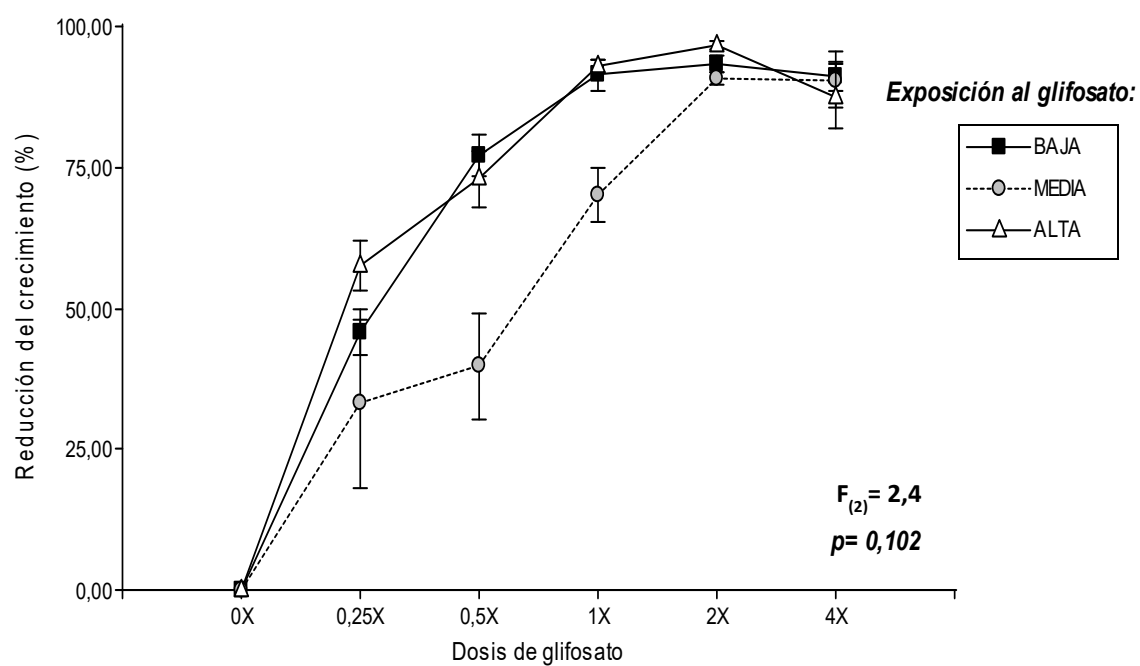
9. *Solanum pseudocapsicum*



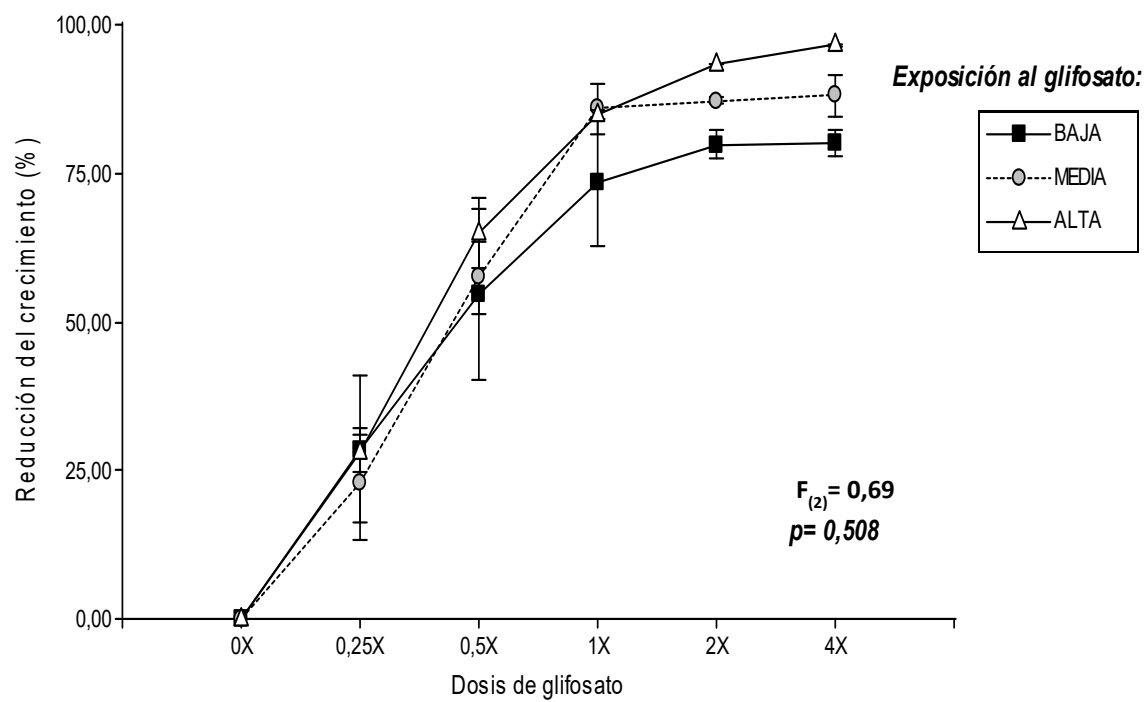
10. *Dysphania ambrosioides*



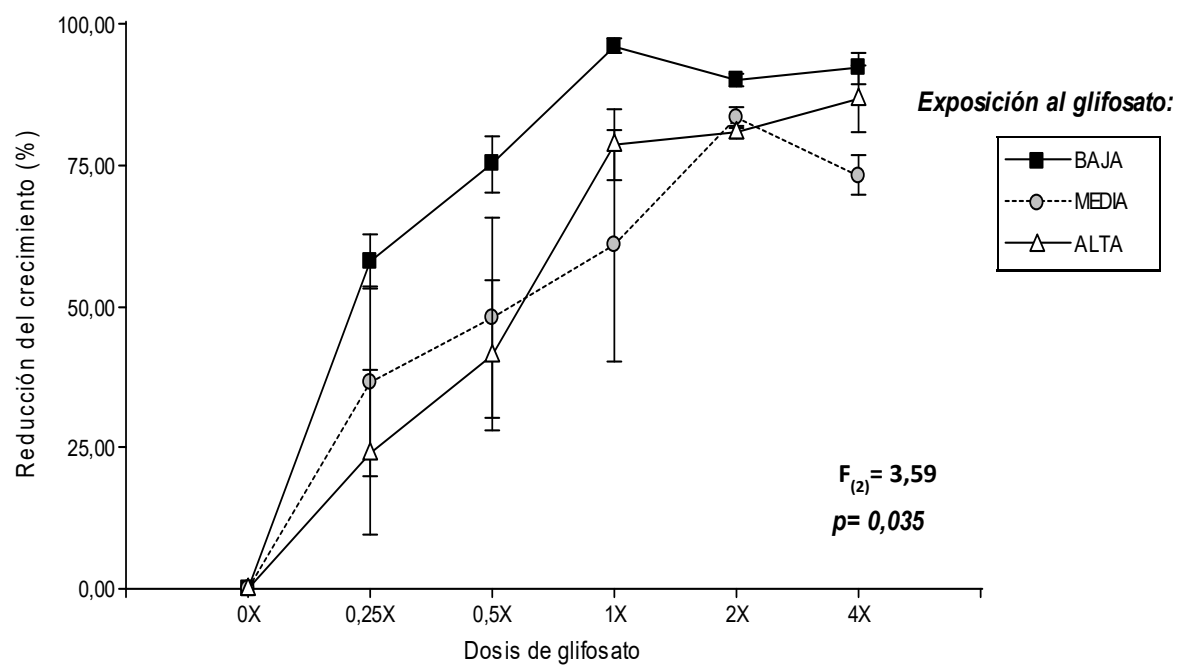
11. *Piptochaetium* sp.



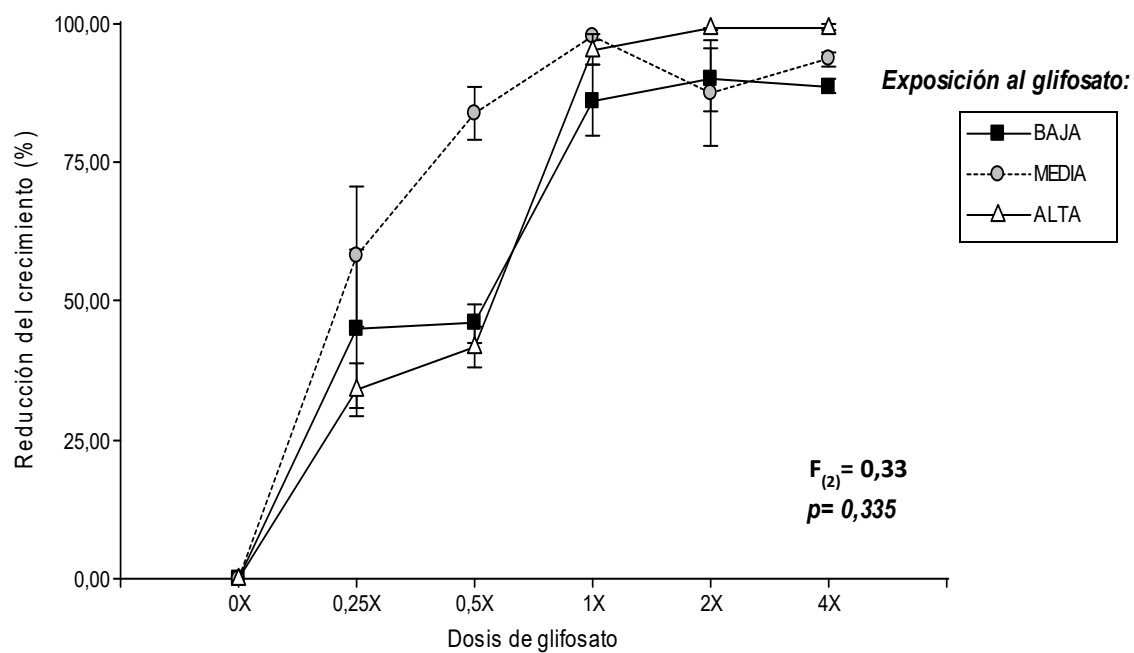
12. *Schinus fasciculatus*



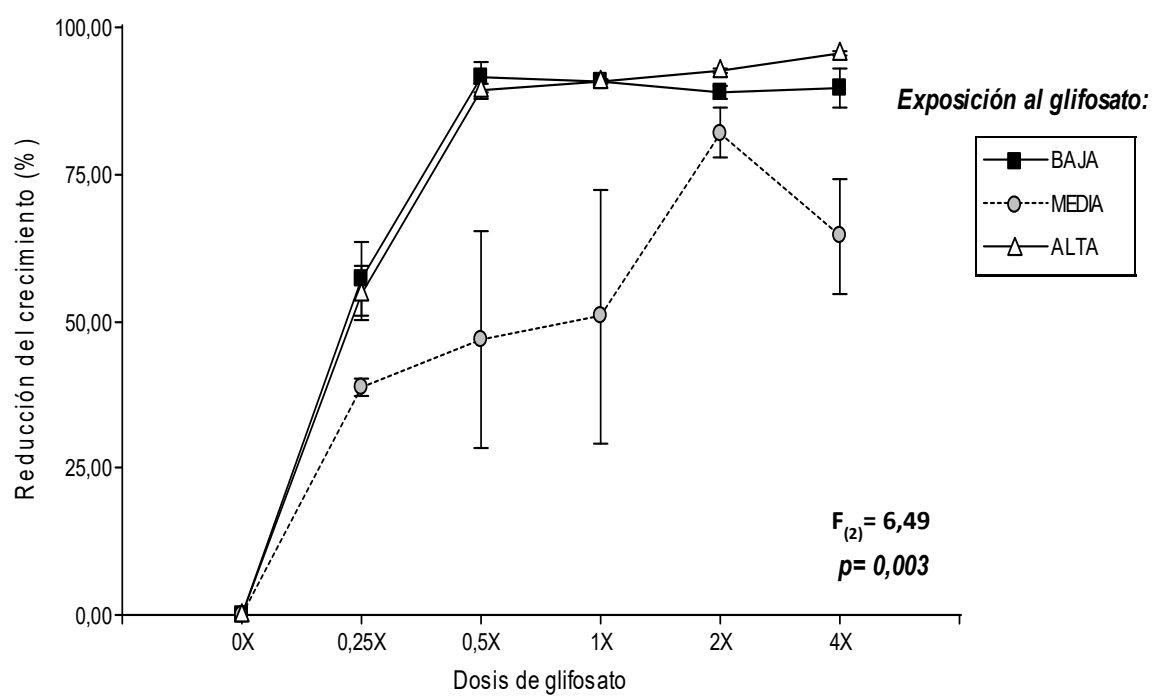
13. *Abutilon pauciflorum*



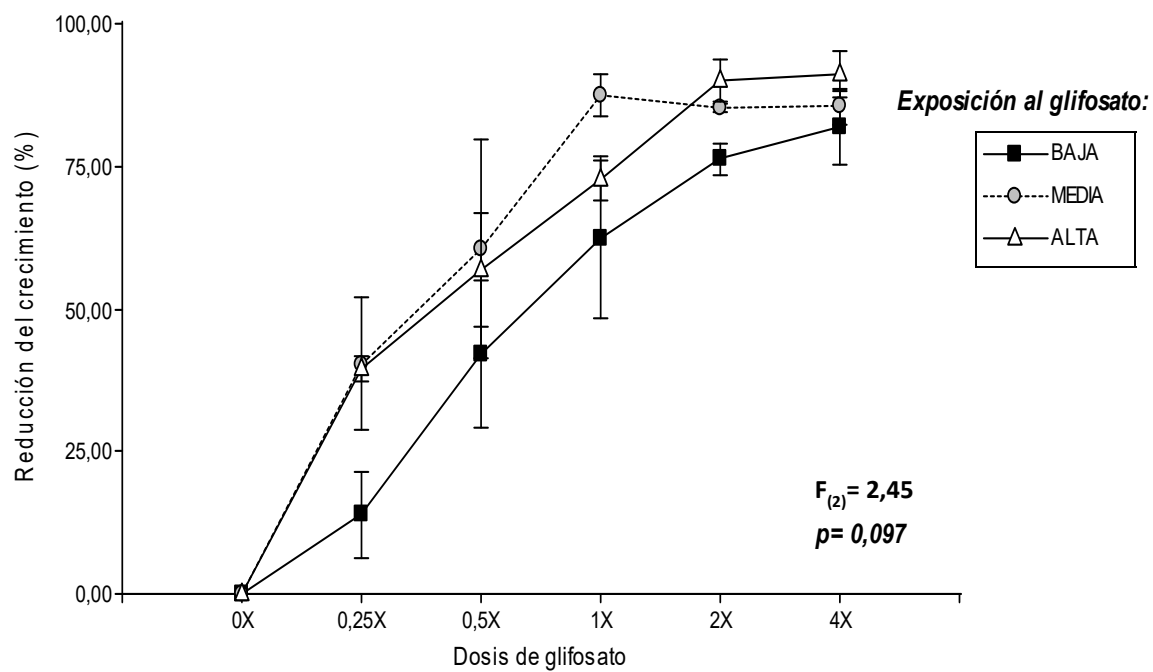
14. *Jarava ichu*



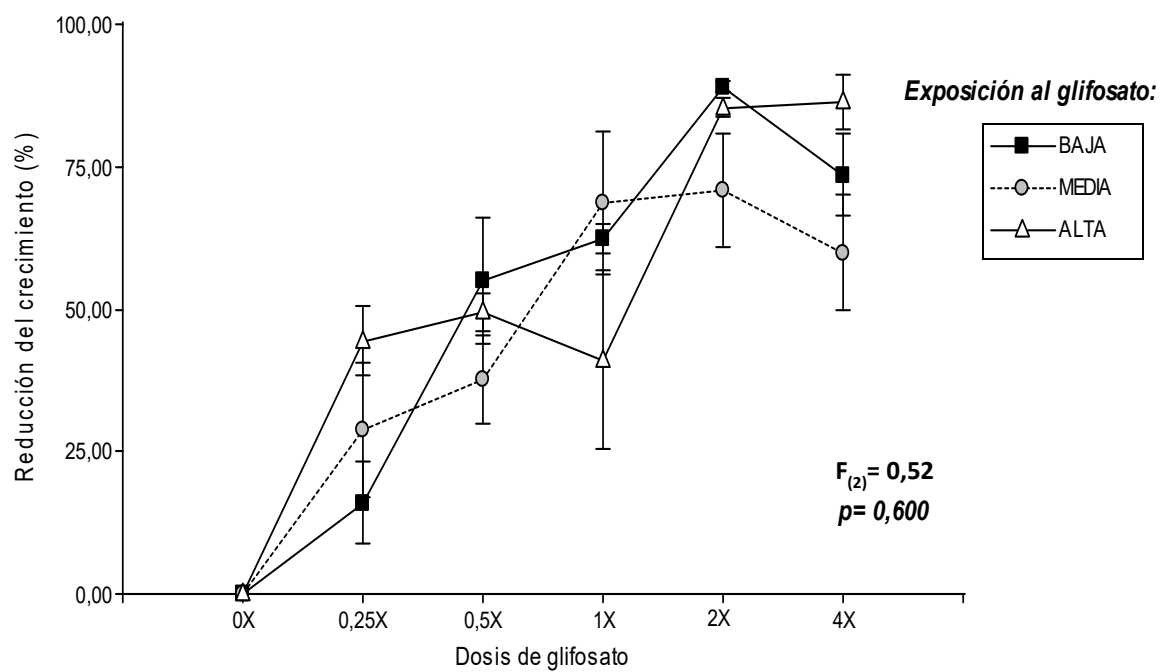
15. *Bouteloua curtipendula*



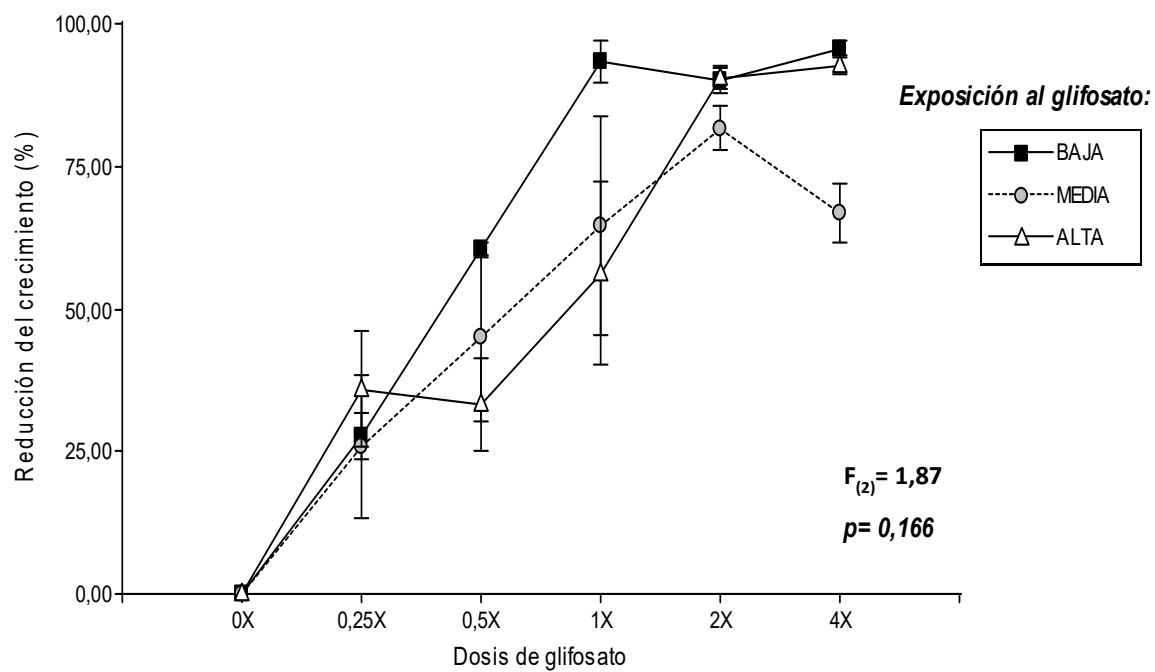
16. *Chromolaena hookeriana*



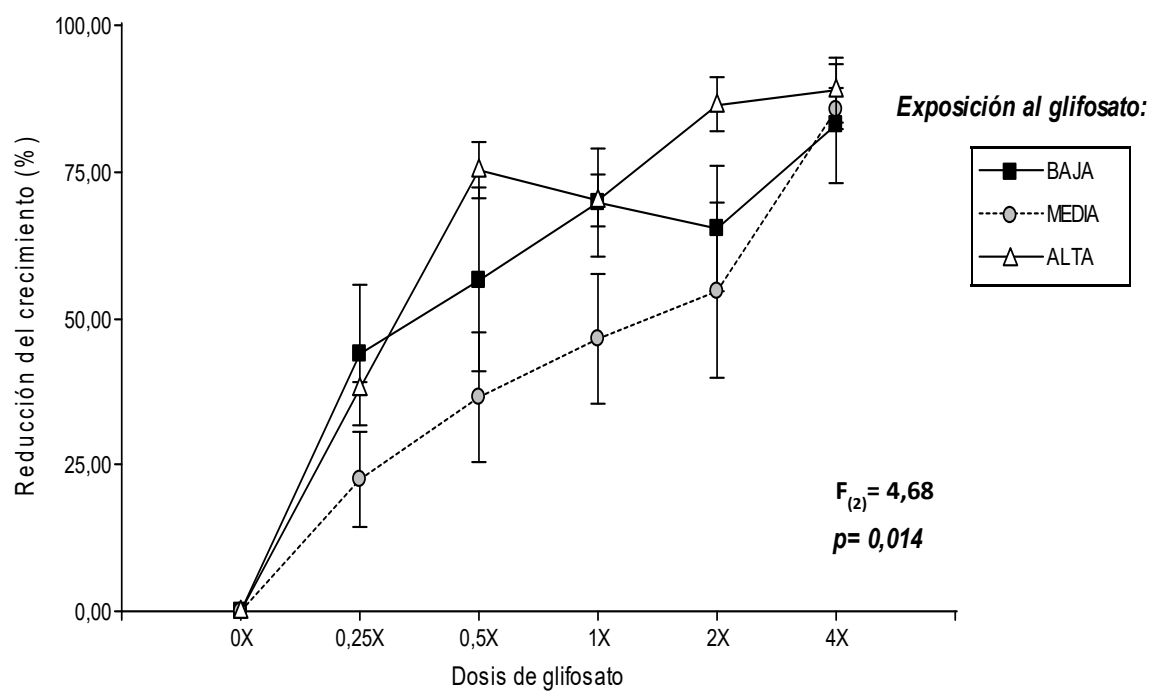
17. *Rivina humilis*



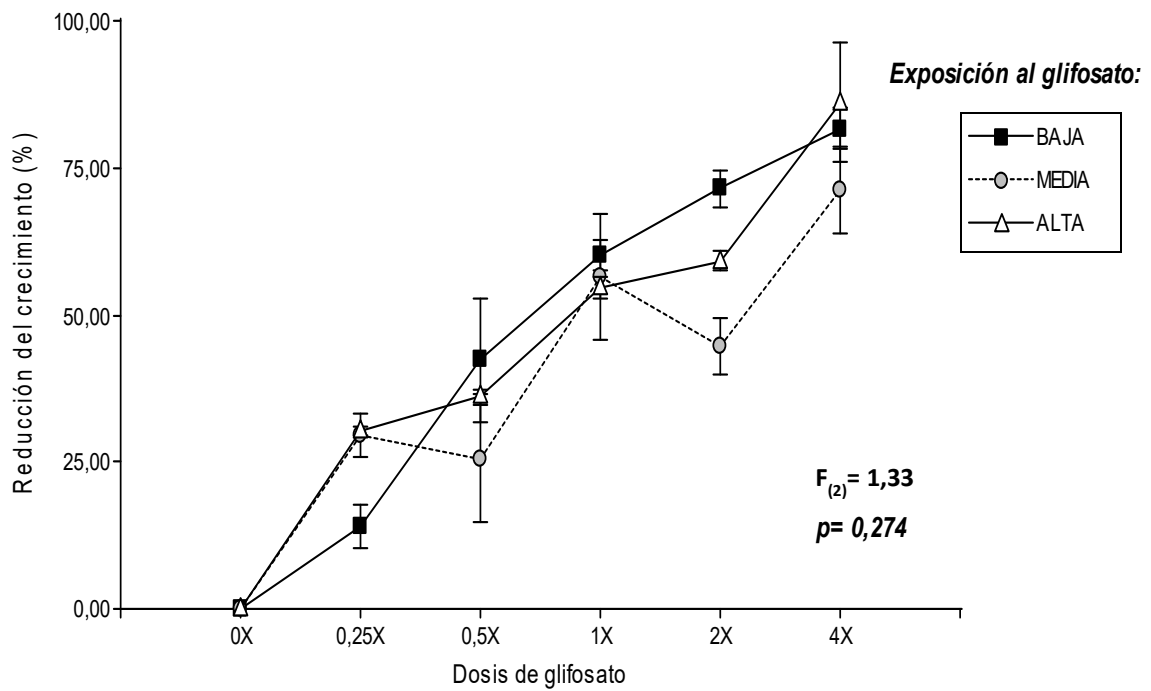
18. *Iresine diffusa*



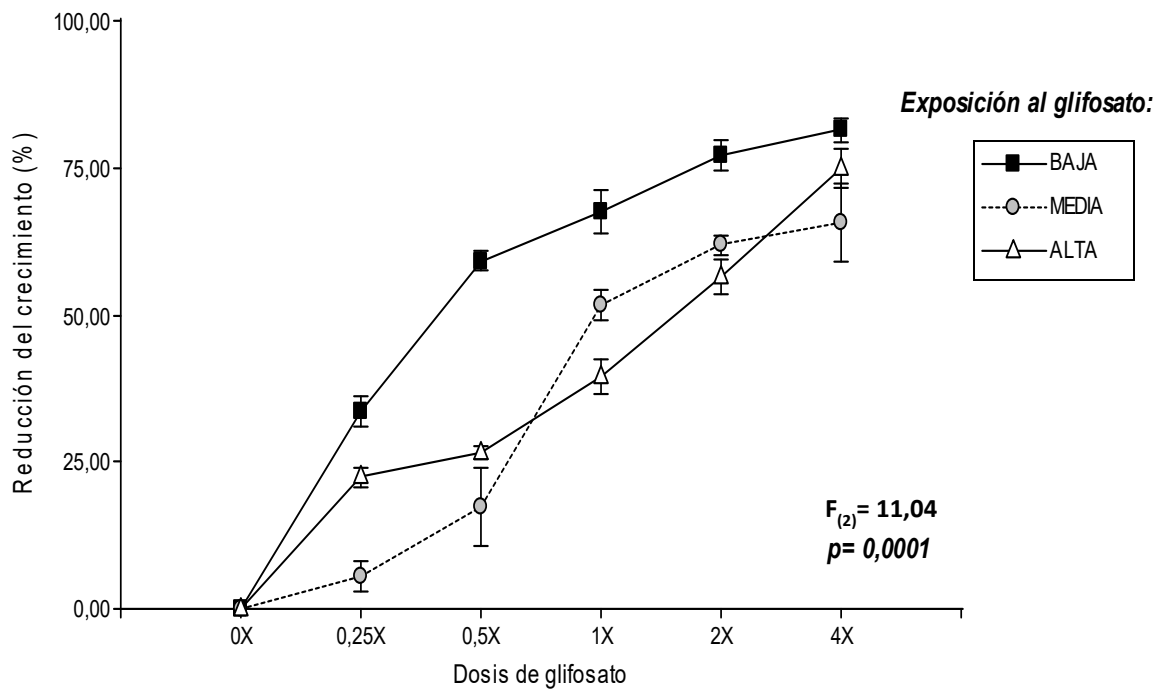
19. *Sida rhombifolia*



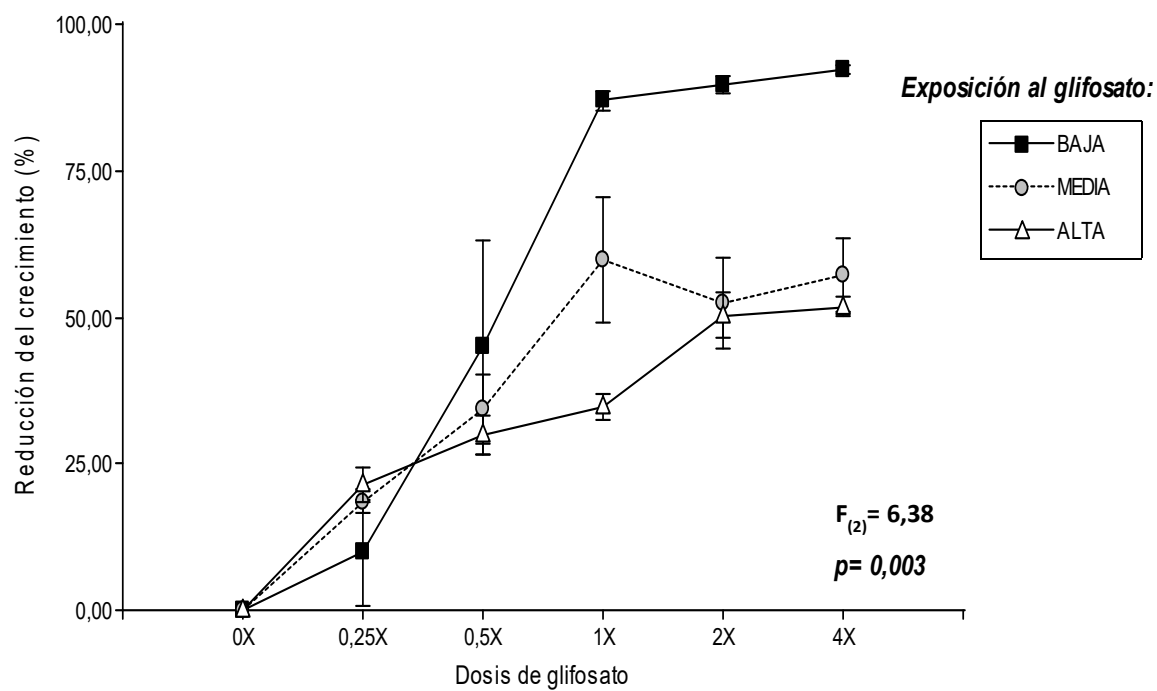
20. *Malvastrum interruptum*



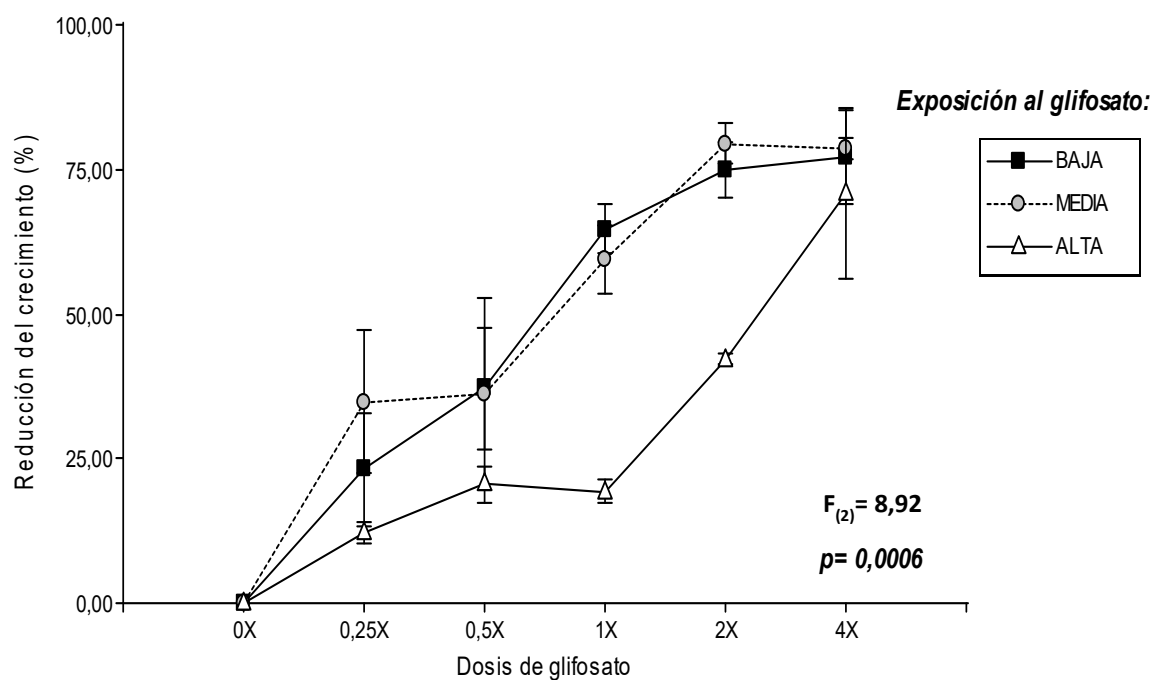
21. *Ipomoea purpurea*



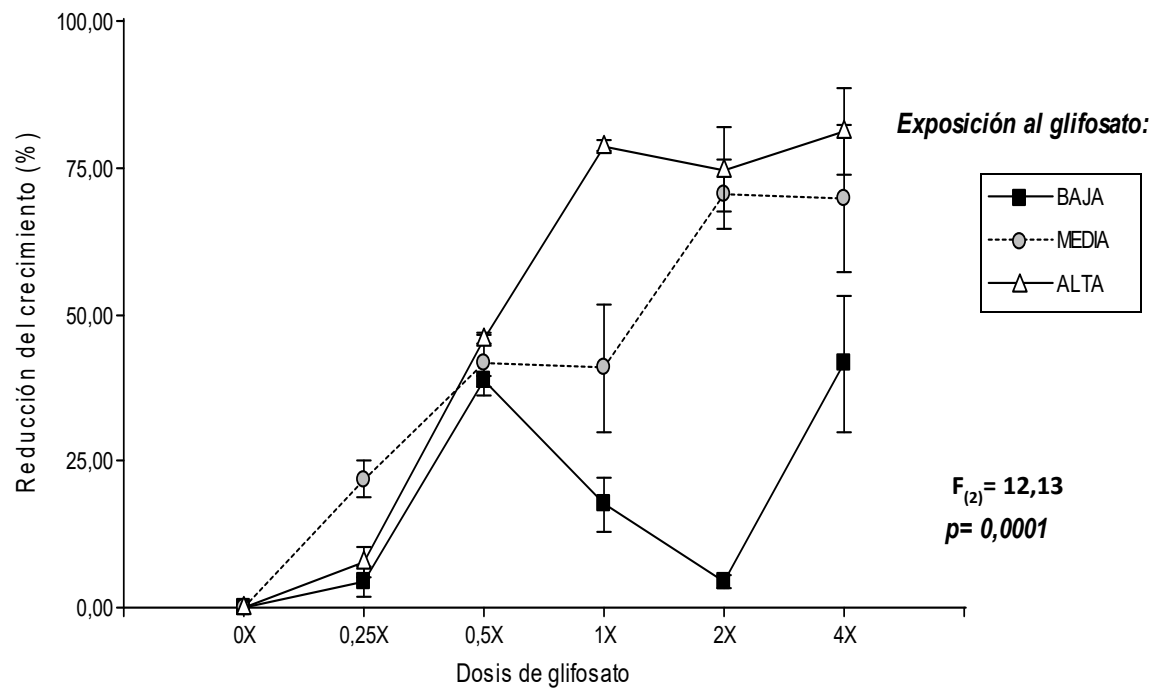
22. *Sida dyctiocarpa*



23. *Sida spinosa*

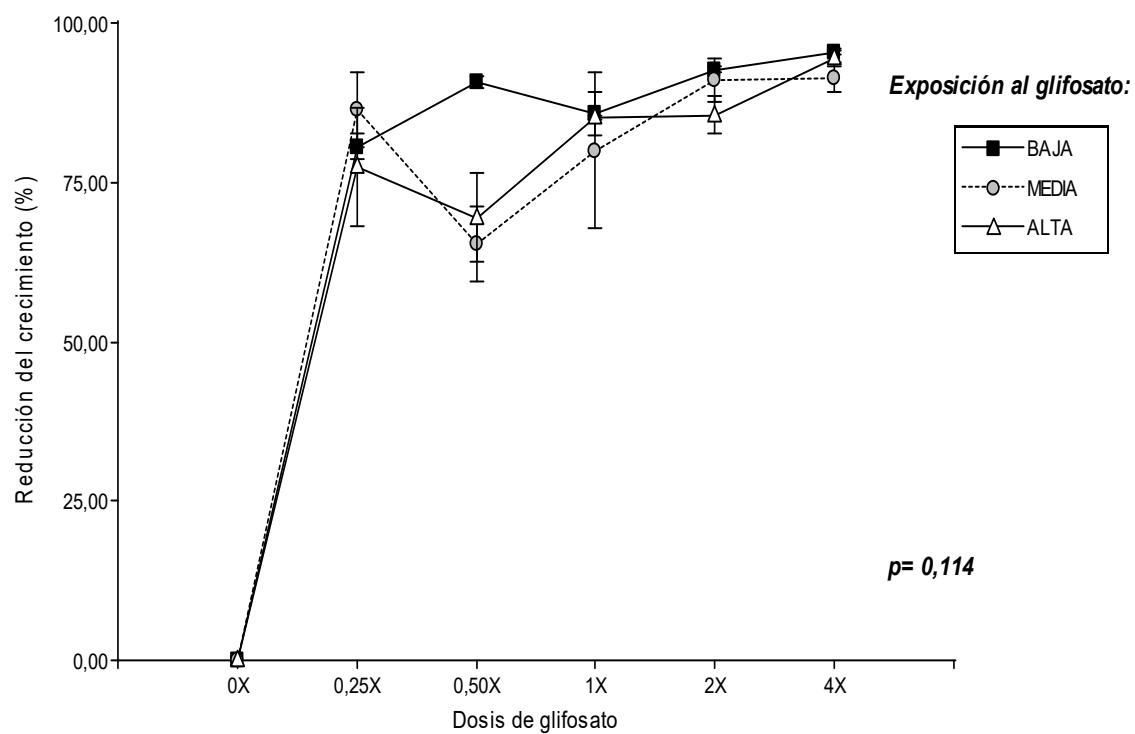


24. *Amphilophium carolinae*

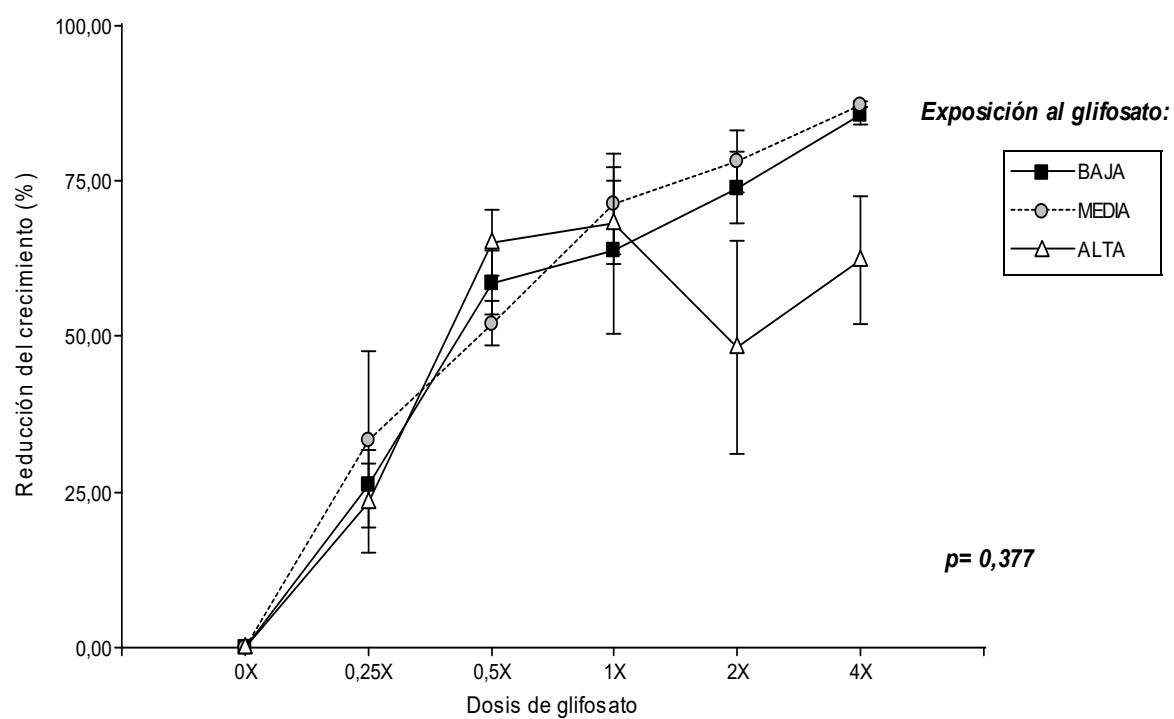


B. APLICACIÓN TARDÍA

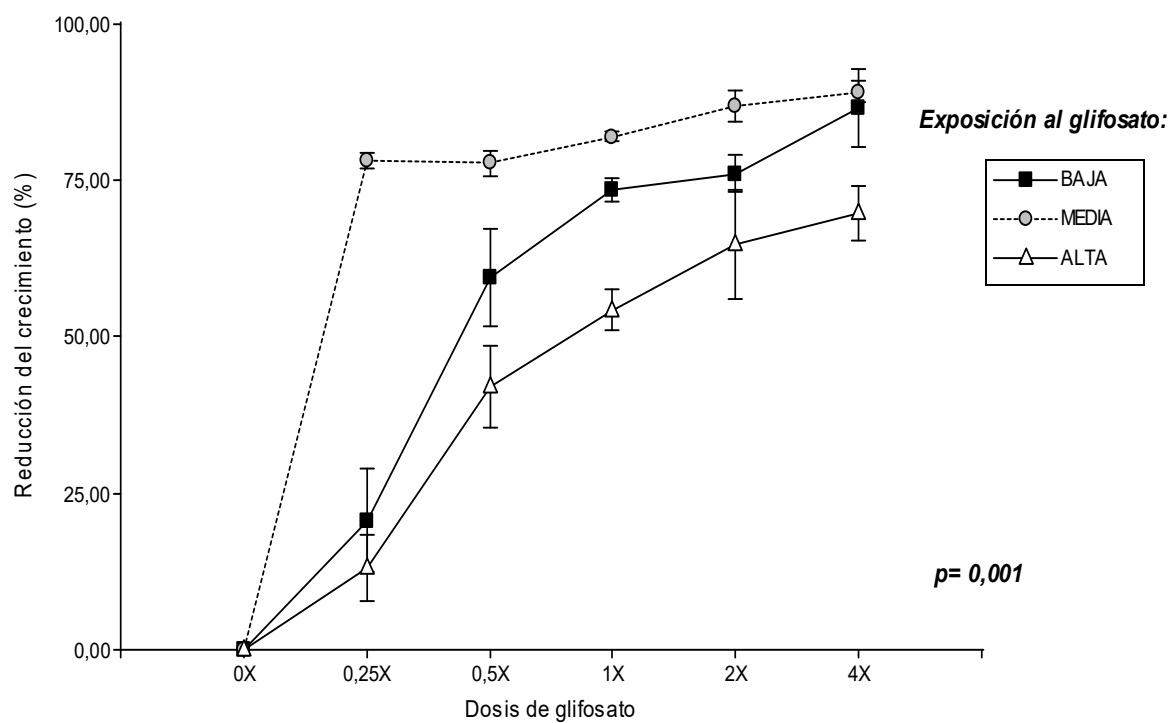
1. *Bidens subalternans*



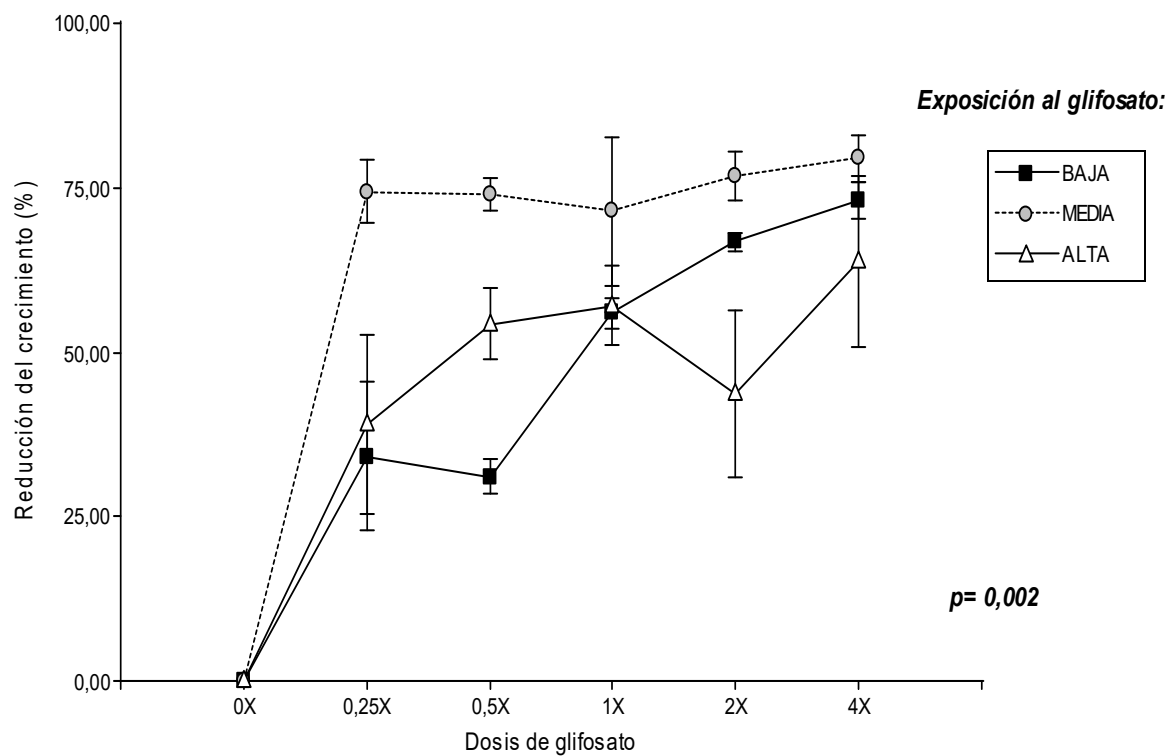
2. *Chromolaena hookeriana*



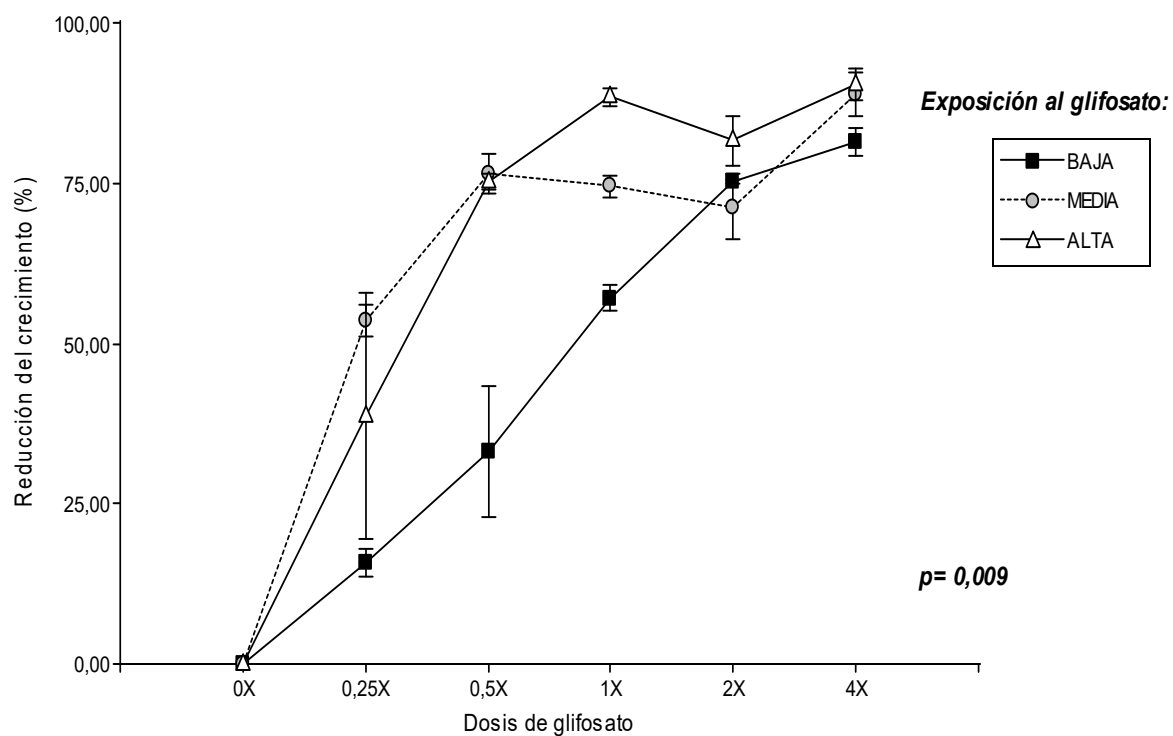
3. *Jarava ichu*



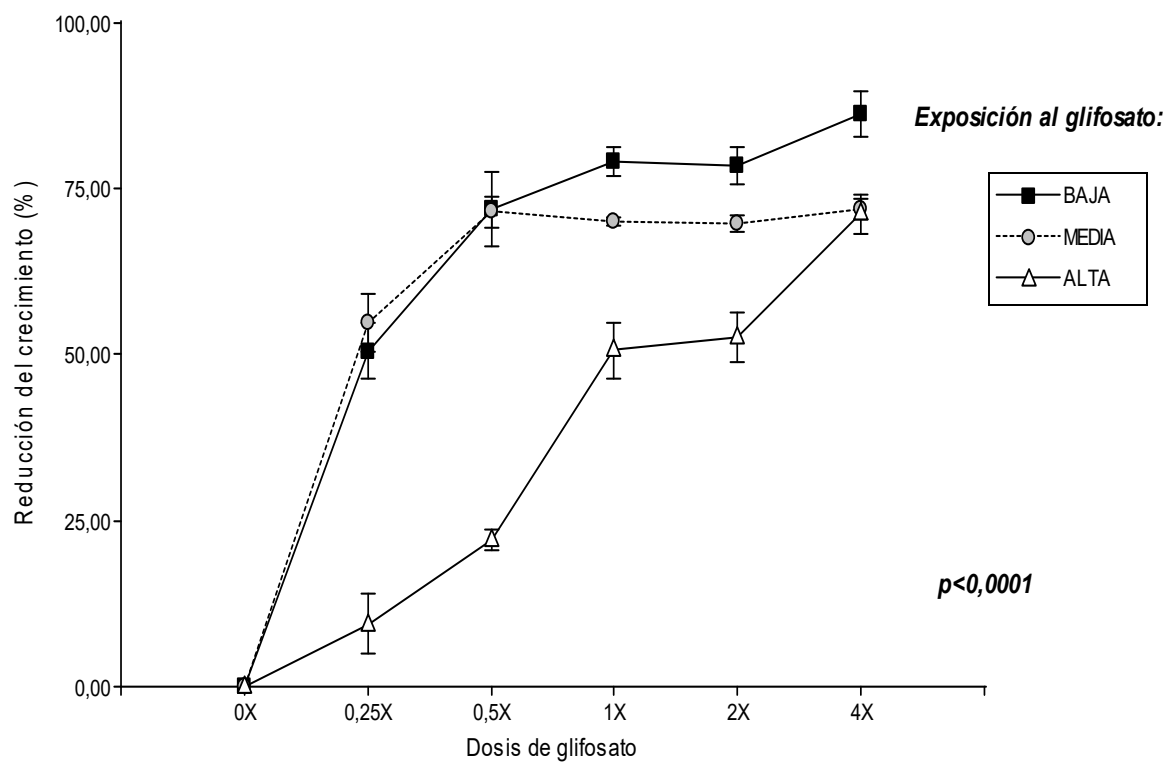
4. *Exhalimolobos weddellii*



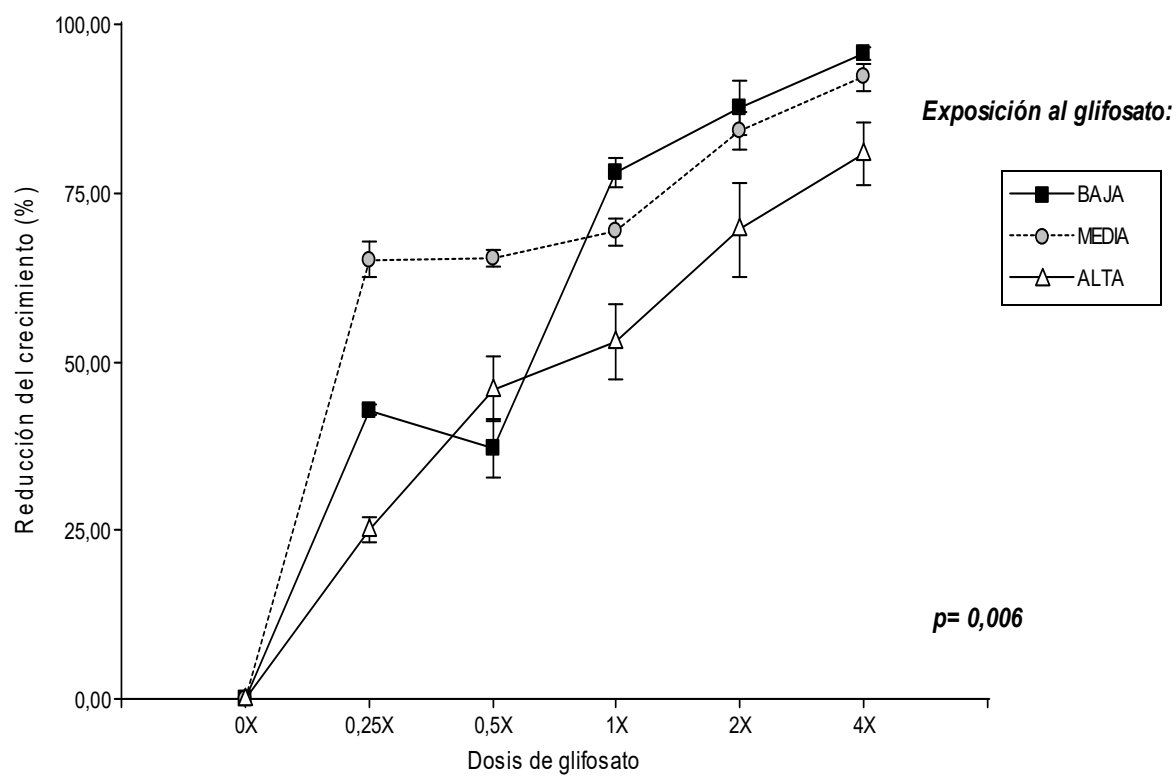
5. *Setaria hunzikeri*



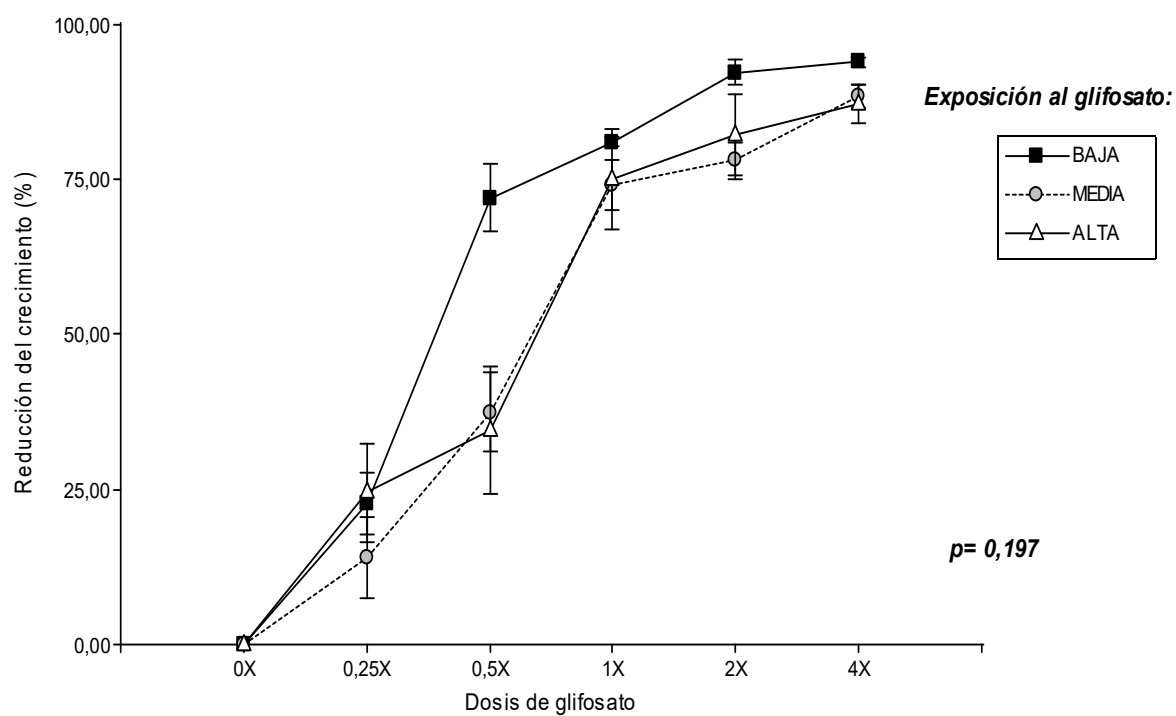
6. *Bouteloua curtipendula*



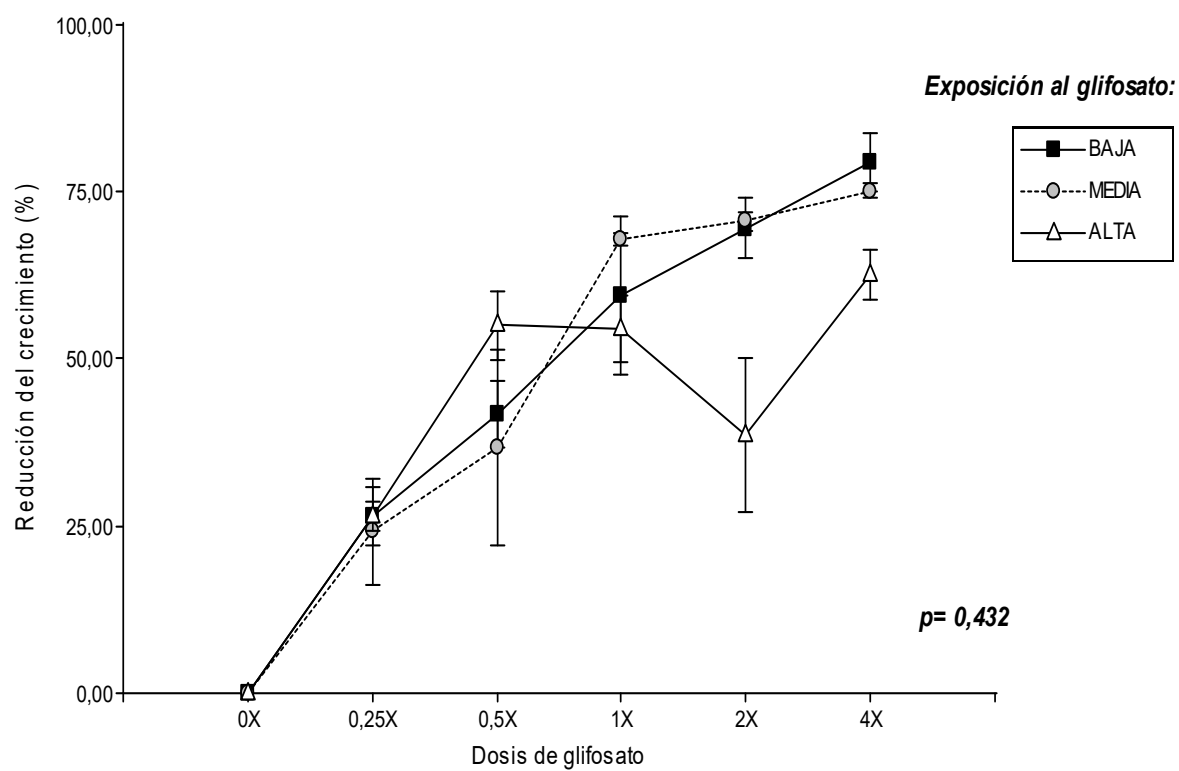
7. *Paspalum malacophyllum*



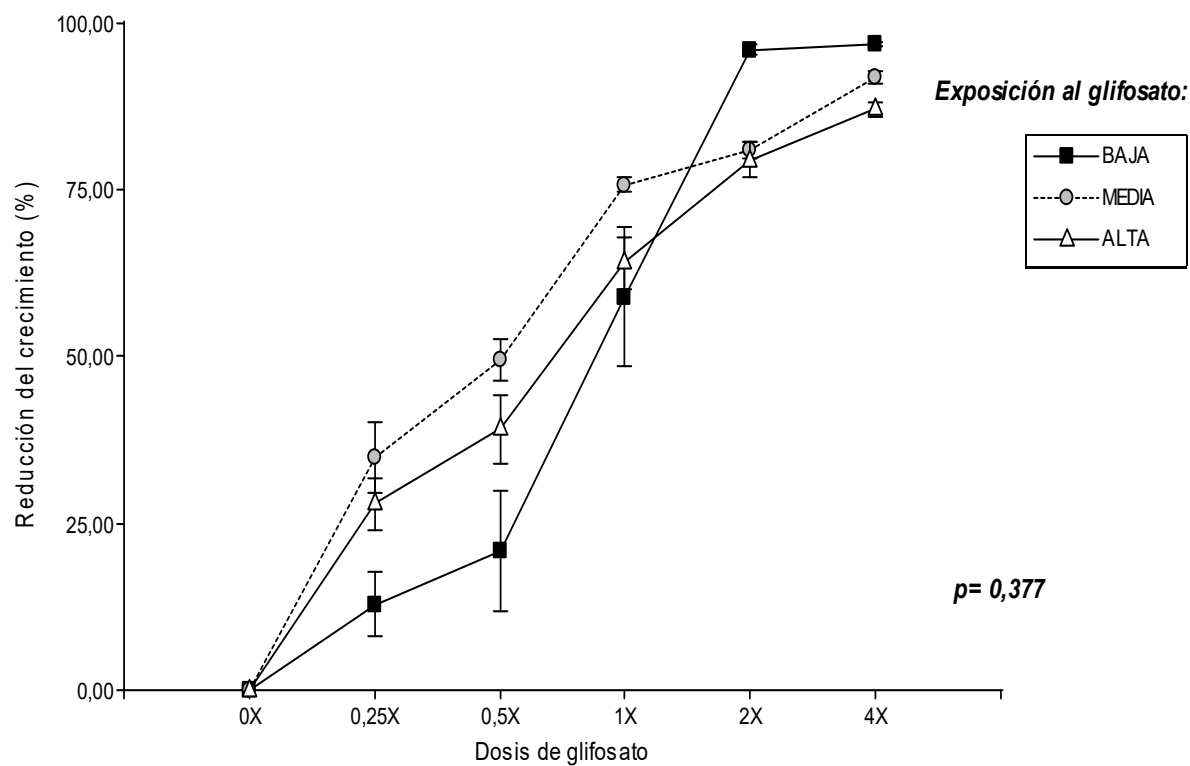
8. *Gouinia latifolia*



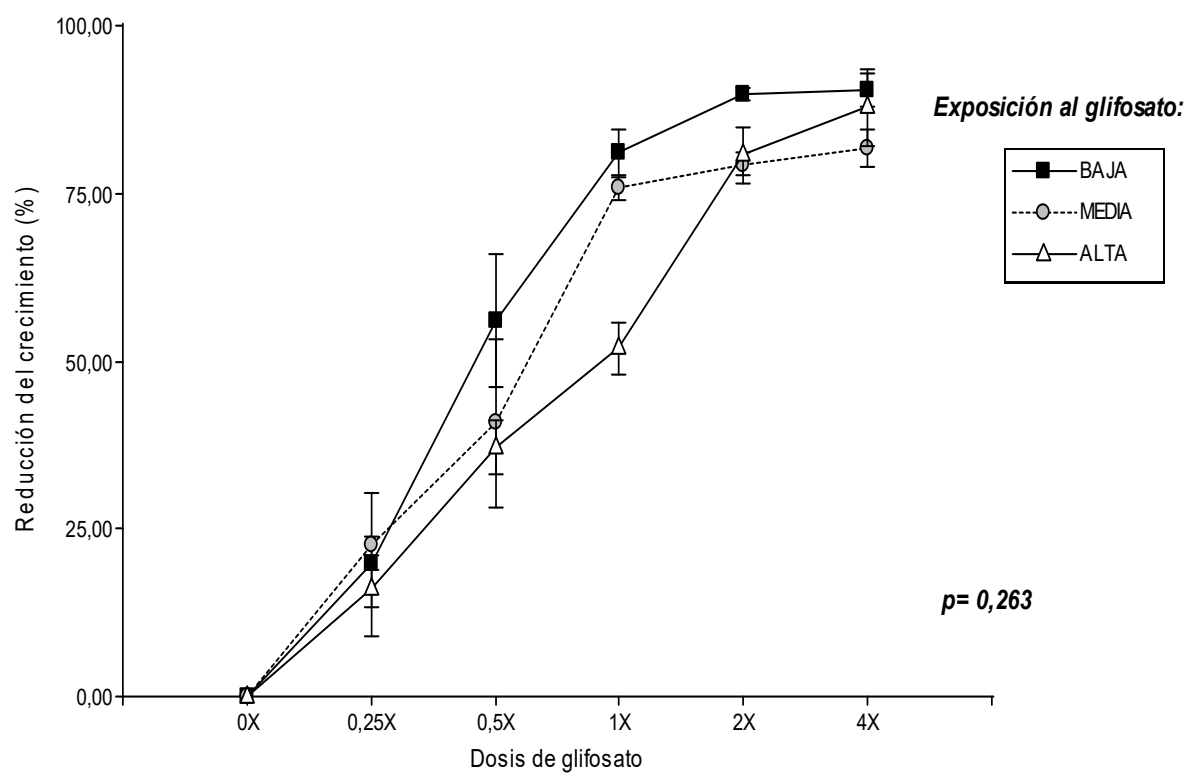
9. *Schinus fasciculatus*



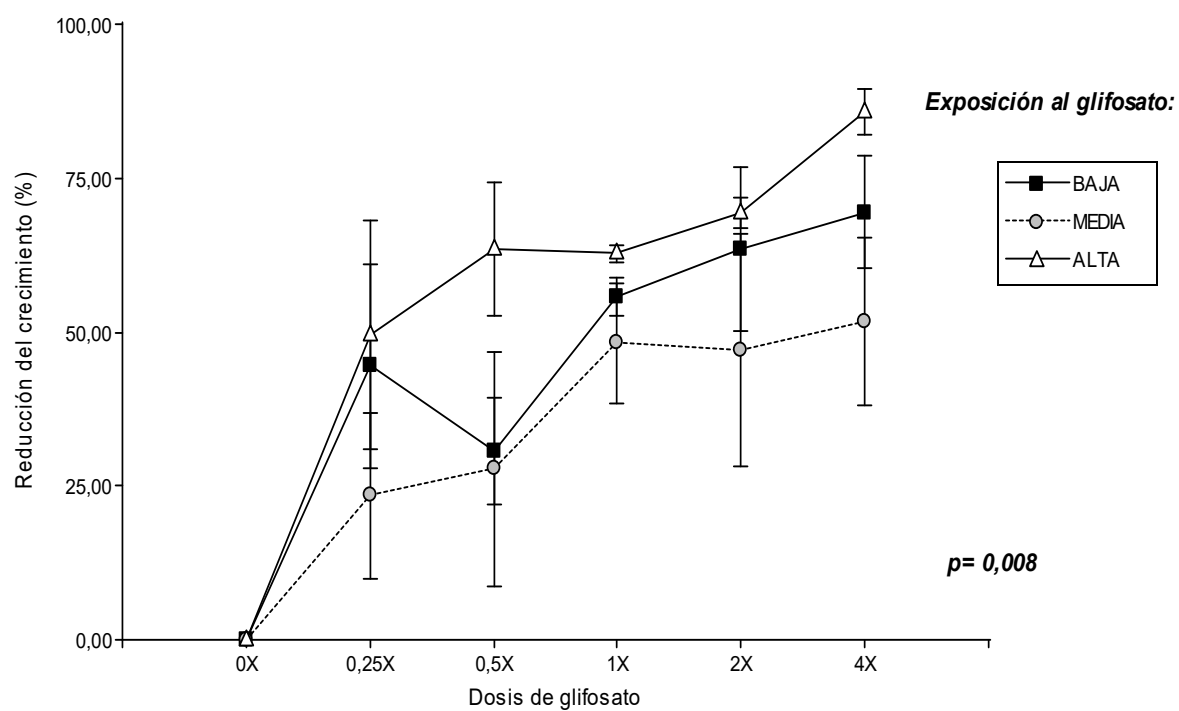
10. *Piptochaetium* sp.



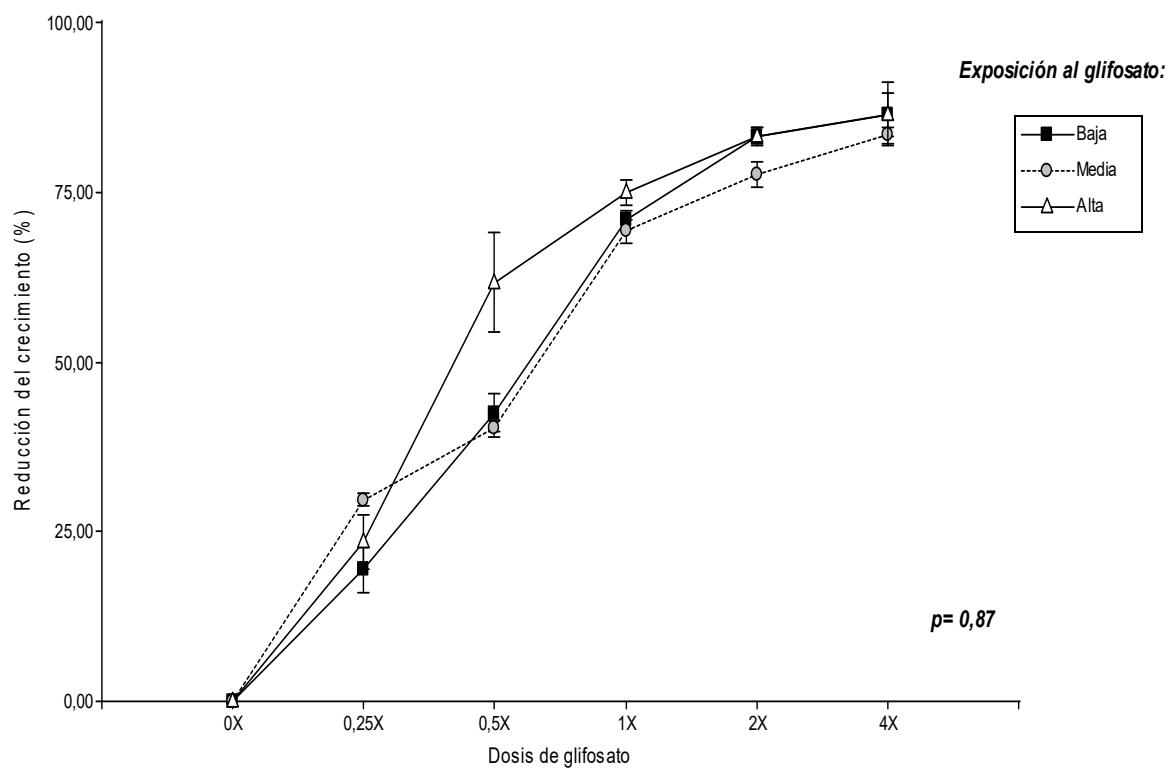
11. *Cyperus* sp.



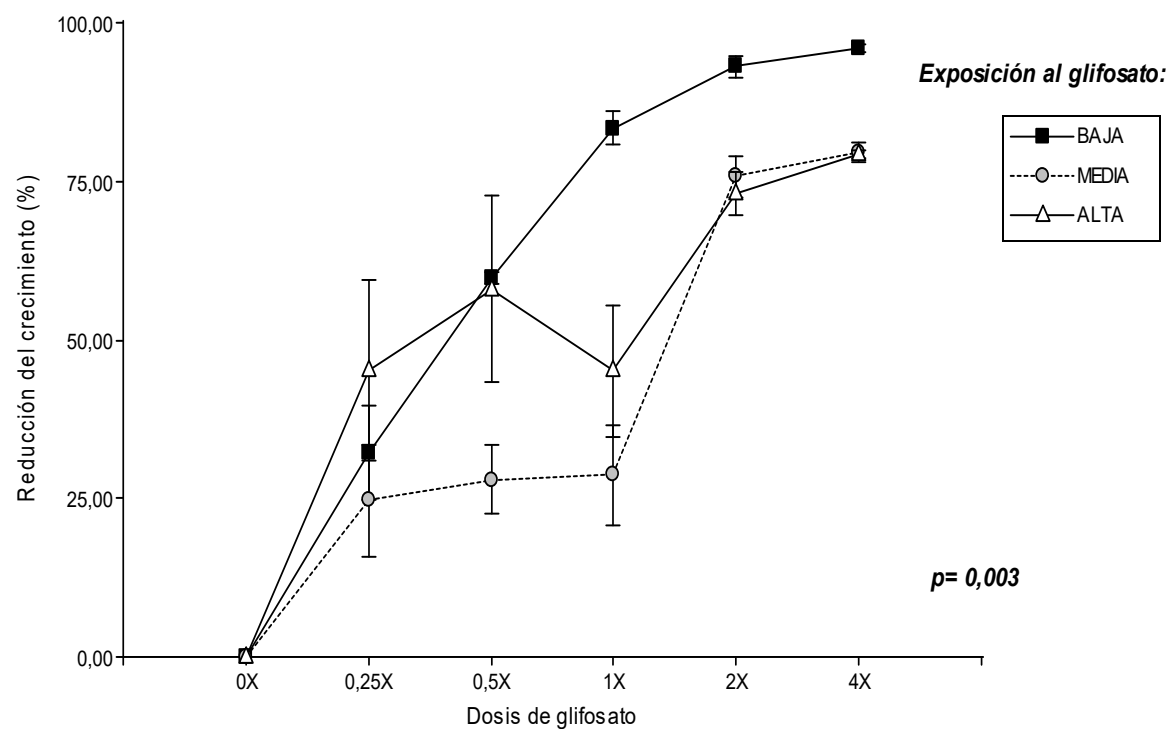
12. *Rivina humilis*



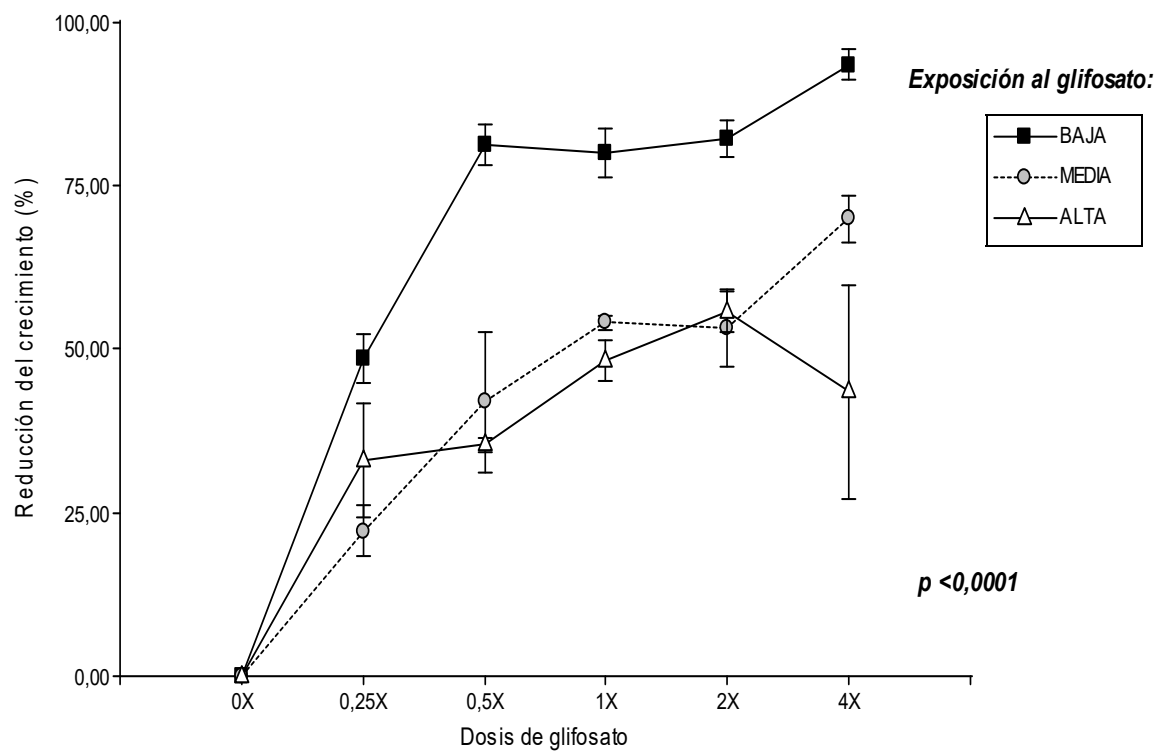
13. *Sida dyctiocarpa*



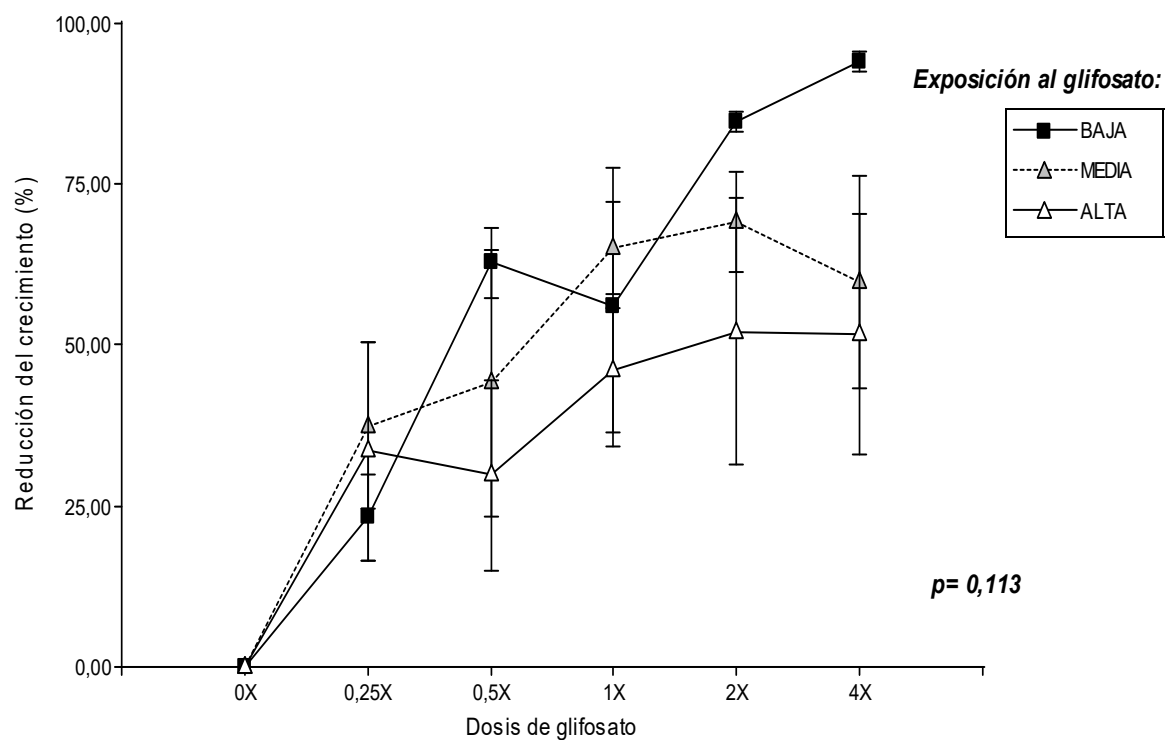
14. *Setaria parviflora*



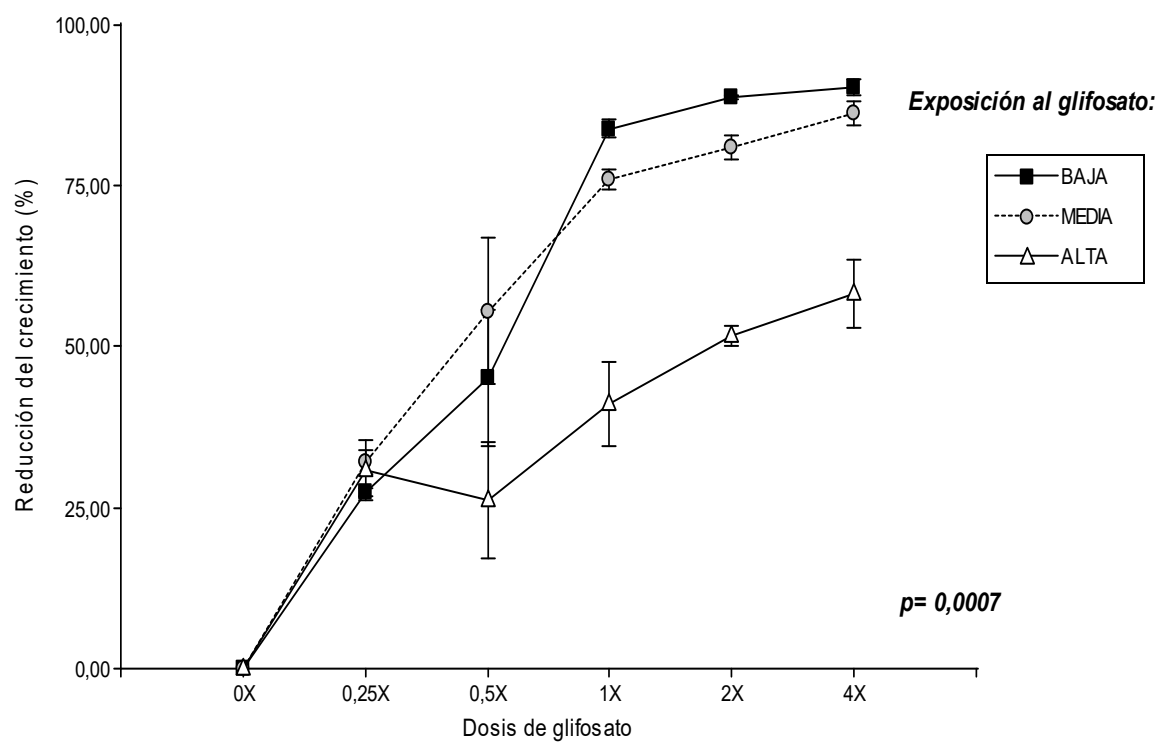
15. *Abutilon pauciflorum*



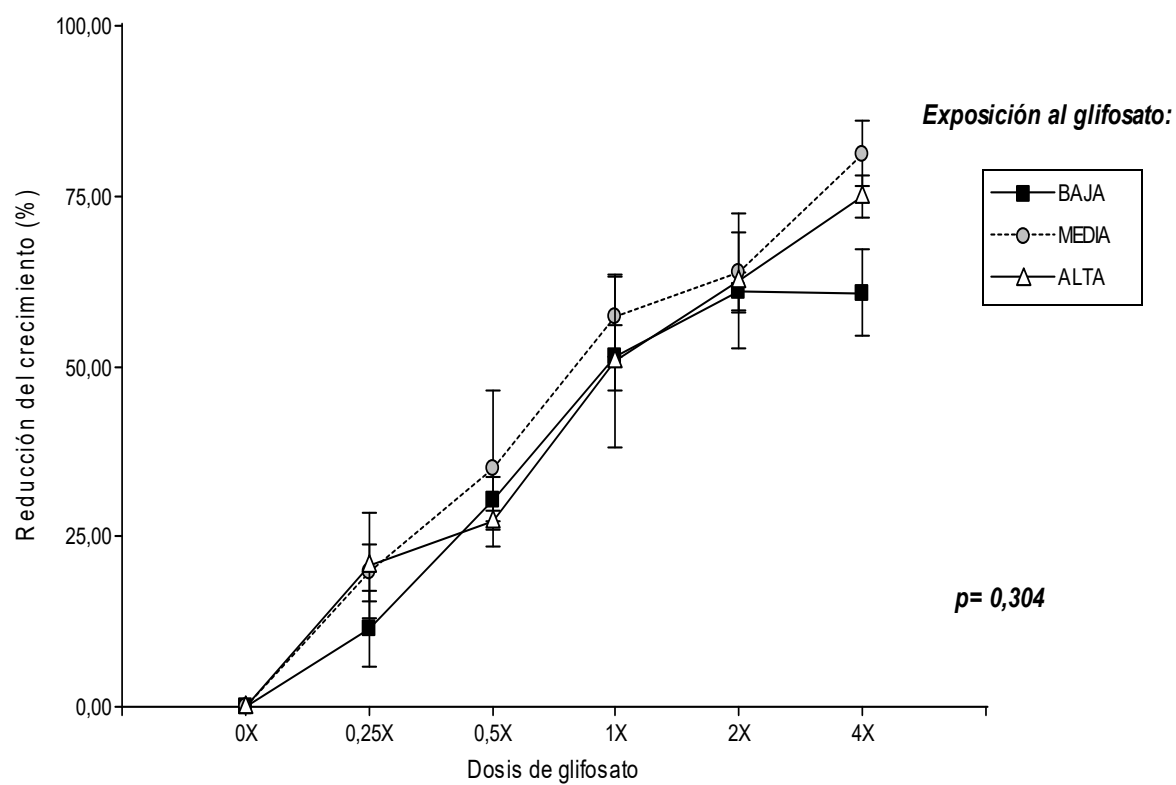
16. *Solanum pseudocapsicum*



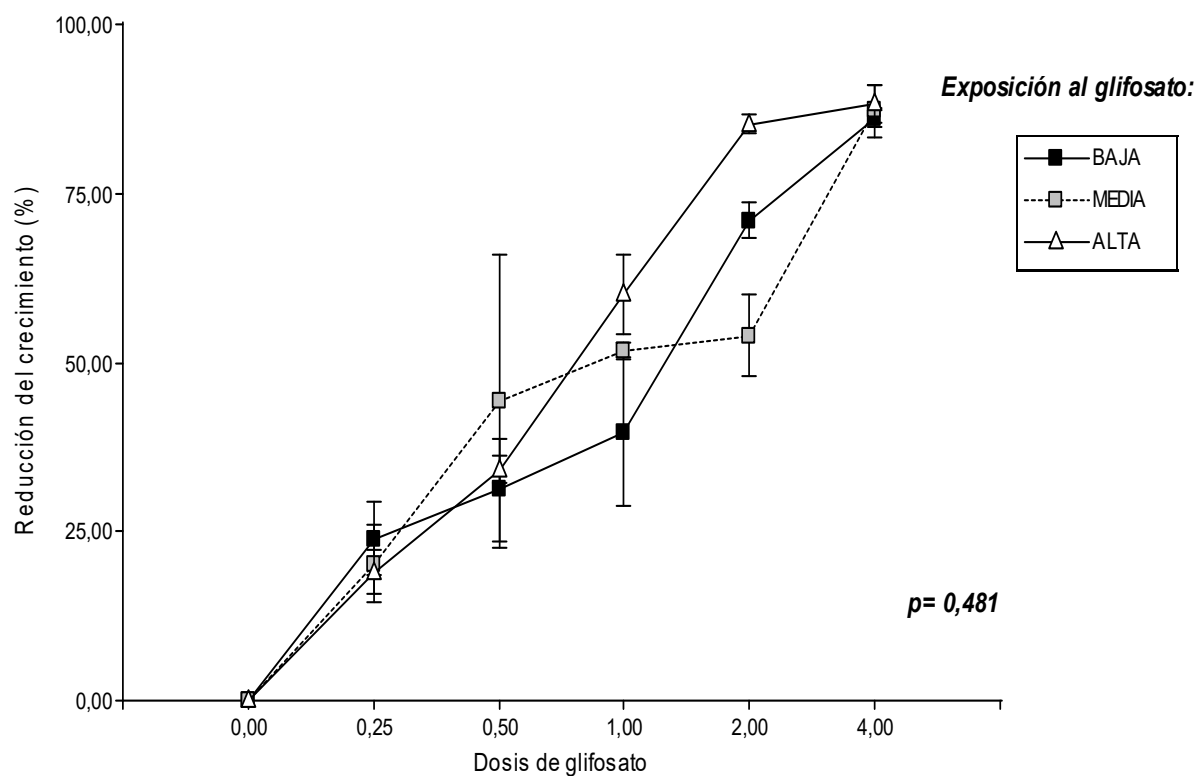
17. *Sida rhombifolia*



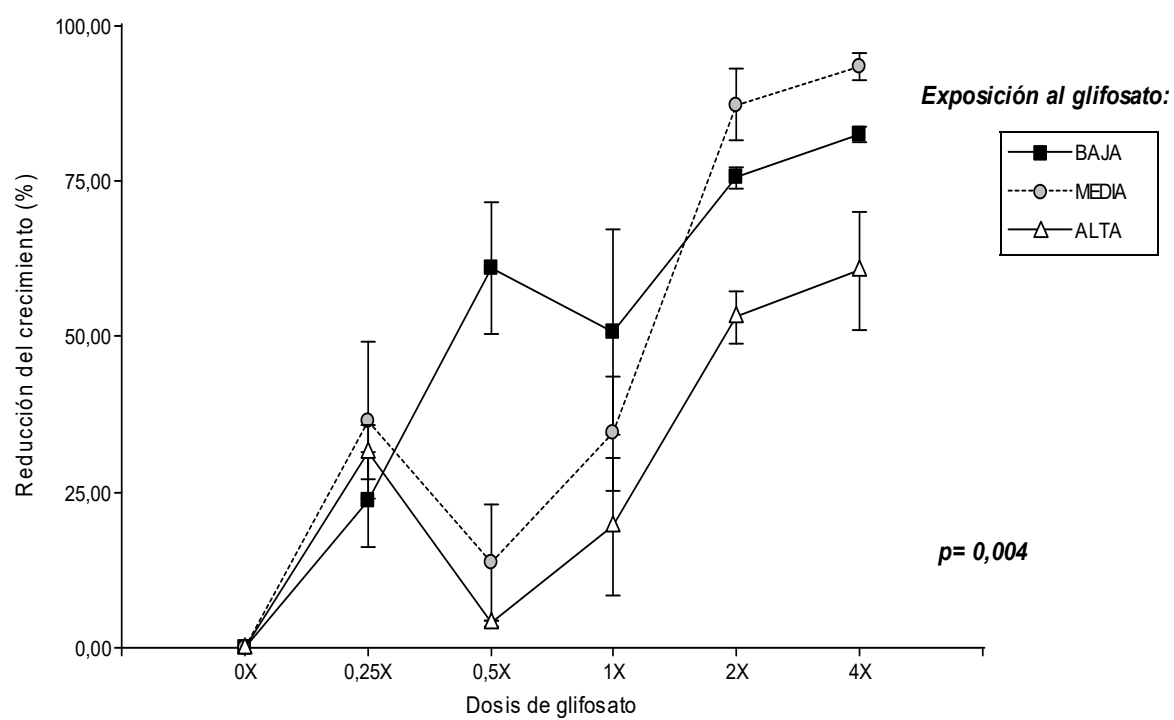
18. *Amphilophium carolinae*



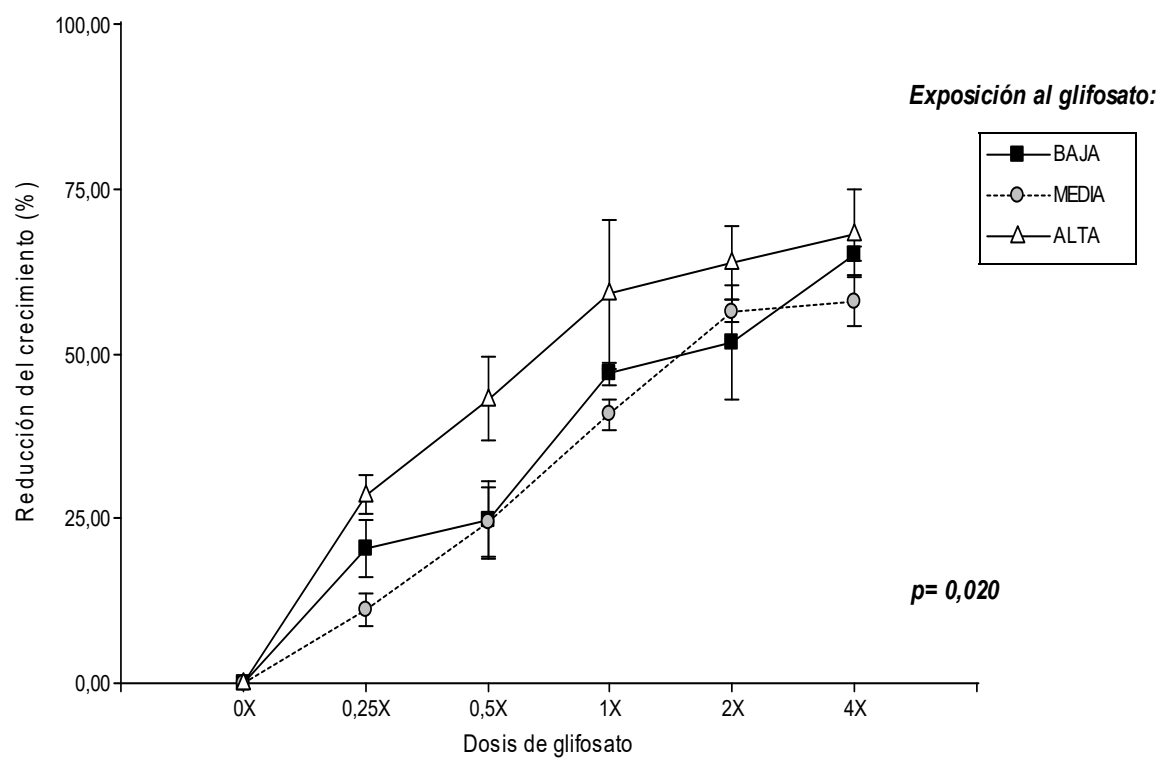
19. *Malvastrum interruptum*



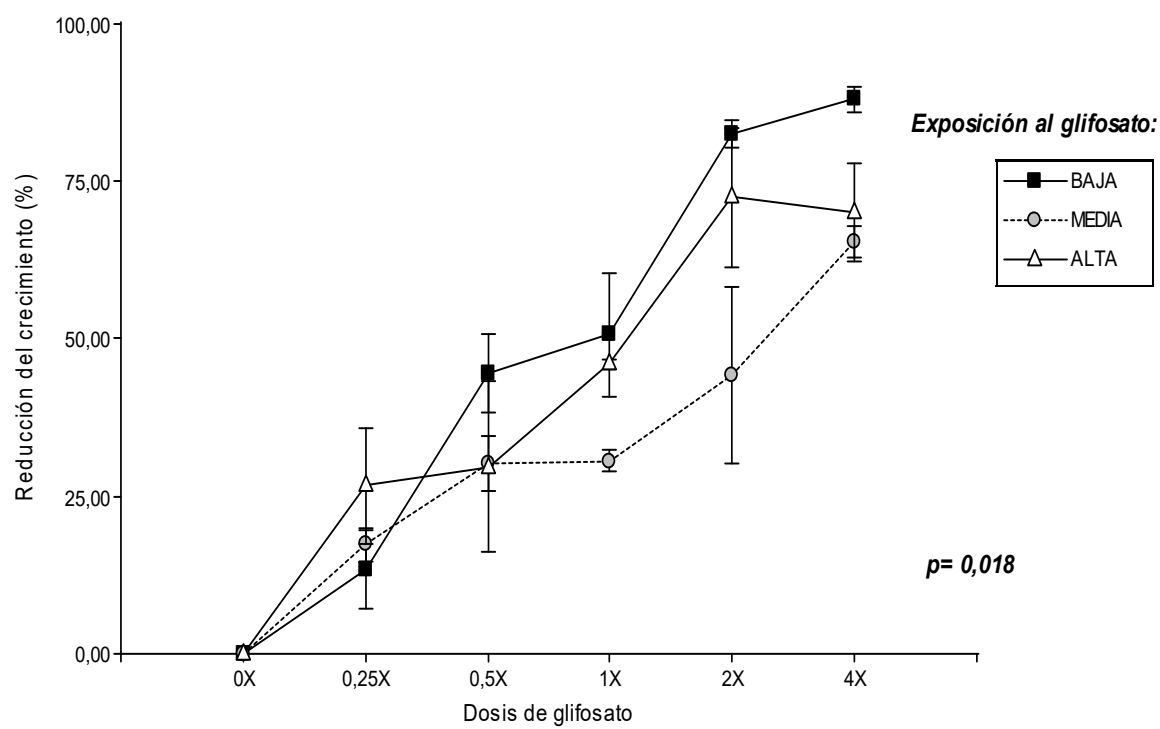
20. *Dysphania ambrosioides*



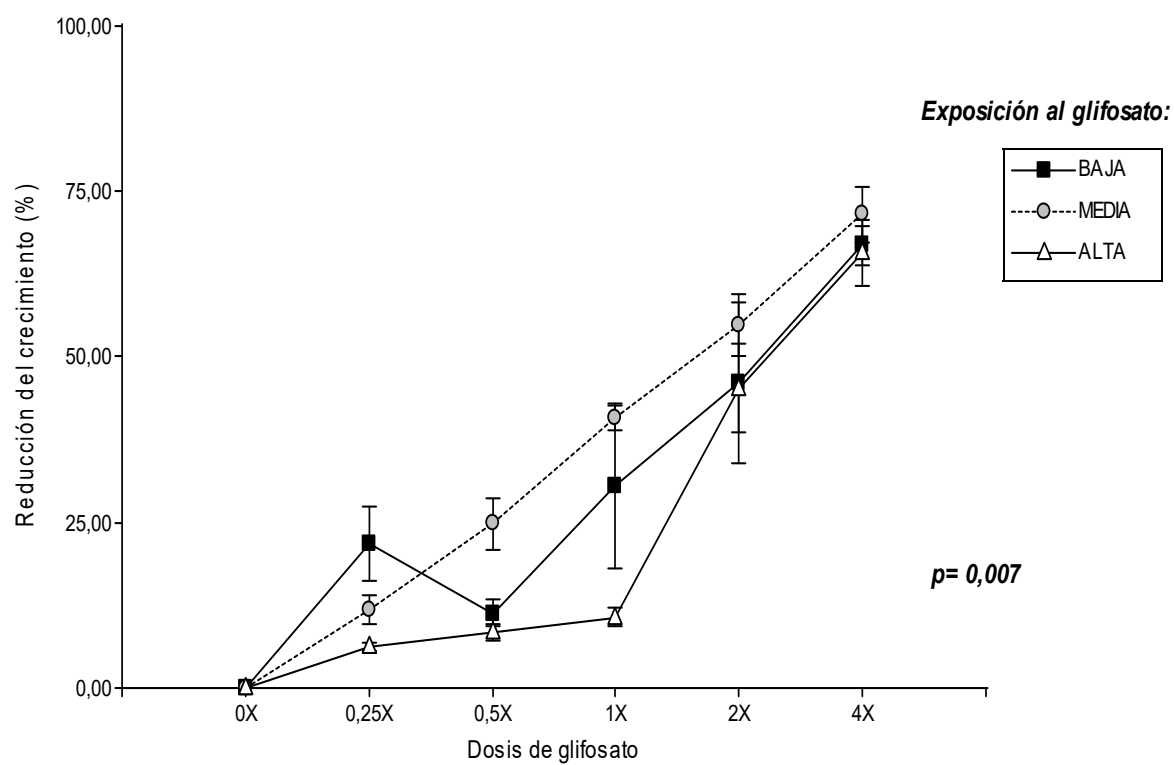
21. *Baccharis glutinosa*



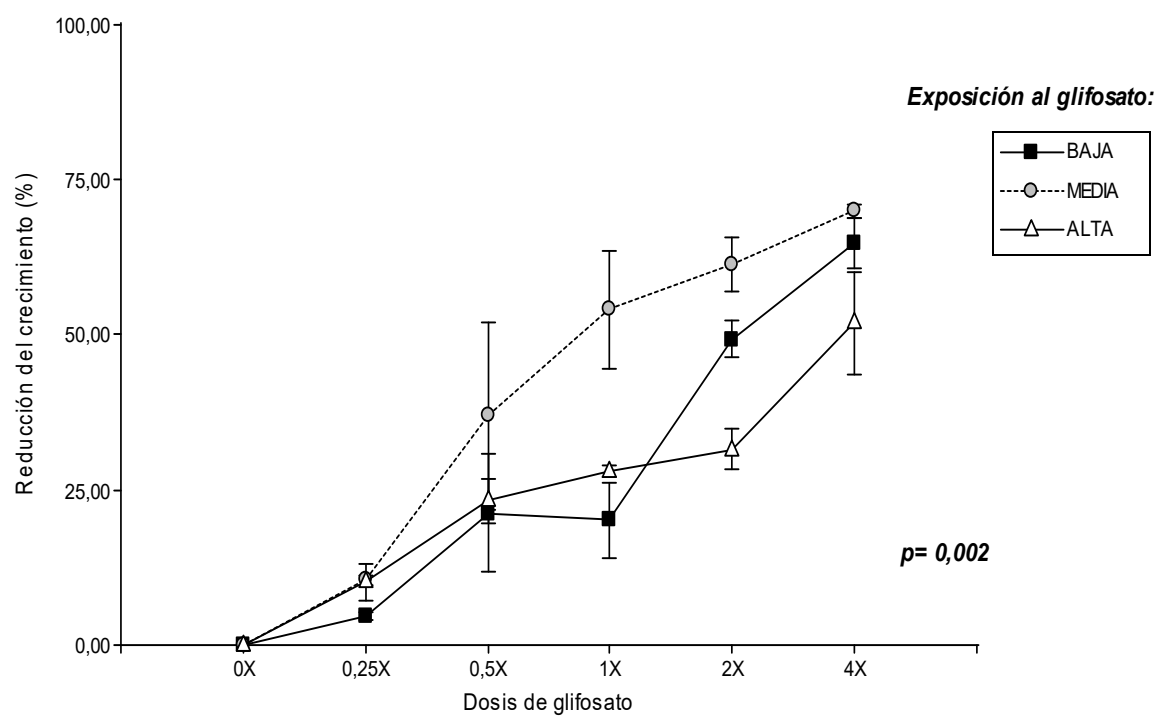
22. *Iresine diffusa*



23. *Sida spinosa*



24. *Ipomoea purpurea*

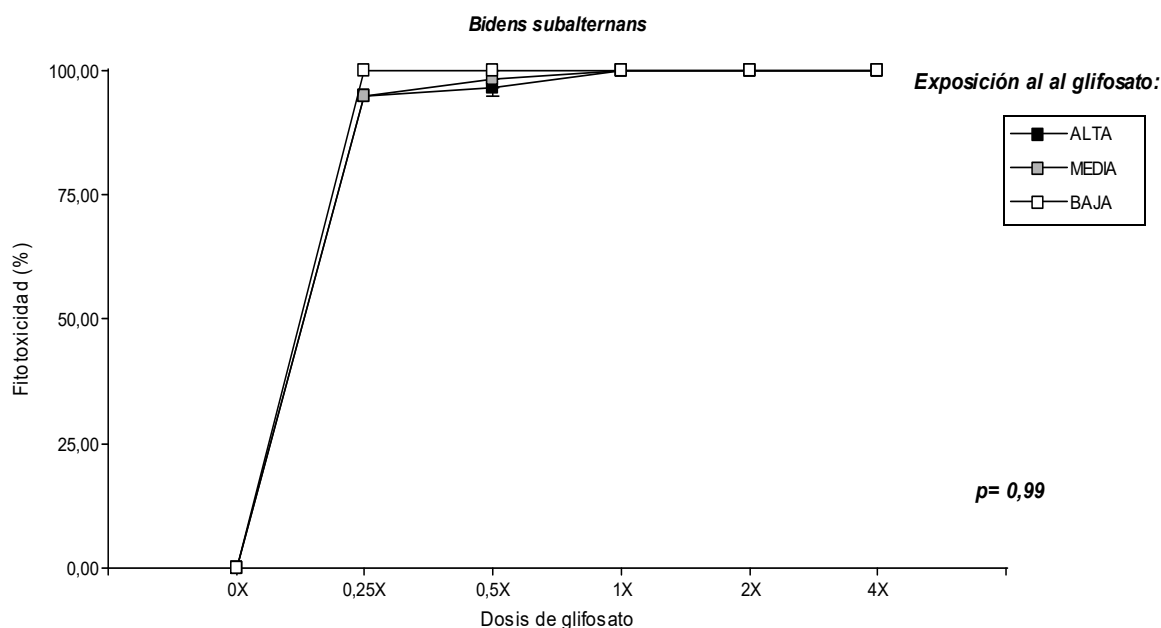


APÉNDICE II

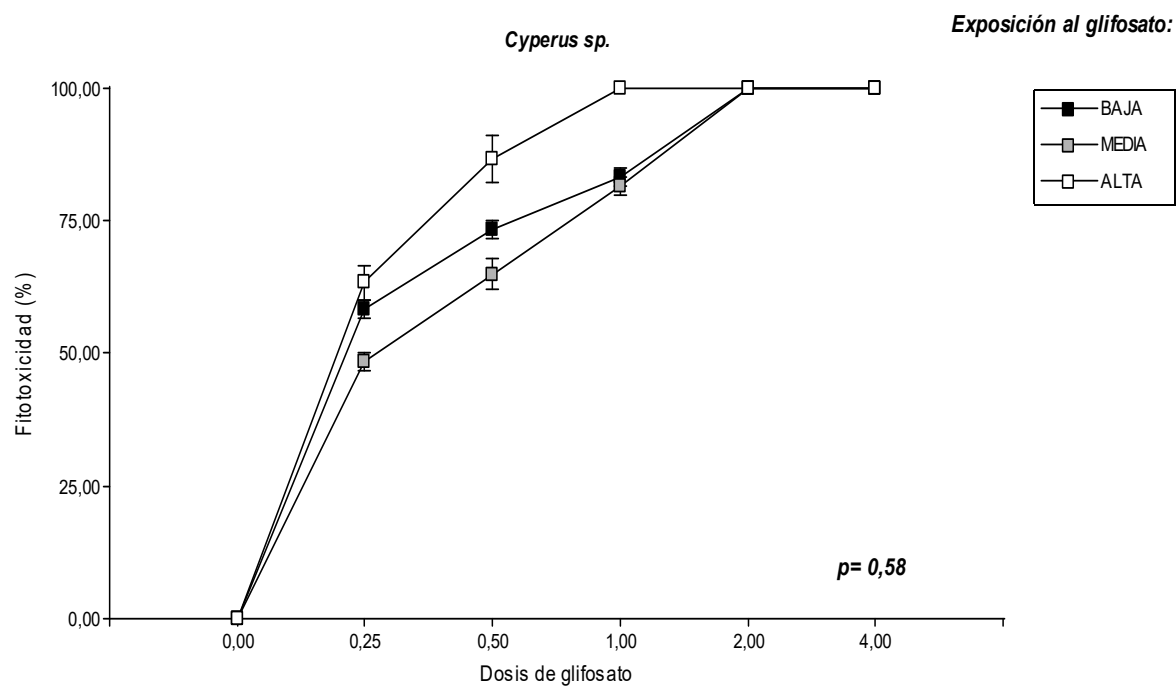
Curvas de fitotoxicidad para cada una de las 24 especies tratadas en este capítulo. Los datos corresponden a los porcentajes de fitotoxicidad de cada especie cuando fue pulverizada con dosis crecientes de glifosato ($X = 3 \text{ l/ha}$: 2100 g ai/ha). El porcentaje de daño en las plántulas fue determinado de acuerdo a la manifestación de síntomas de clorosis, daño foliar, marchitez y/o muerte respecto al control. En las plántulas utilizadas como control para cada especie no se observó ninguno de los síntomas de fitotoxicidad considerados en este trabajo. Las observaciones fueron realizadas 21 días posteriores a la aplicación de glifosato sobre las plántulas. Las especies fueron ordenadas en orden decreciente según su sensibilidad al glifosato (considerando su valor de IS). En cada gráfico se muestran los valores de p respectivos para el análisis de ANCOVA realizado a fin de comparar la respuesta de cada especie a las dosis de glifosato, según si las semillas provinieran de fragmentos de bosque con alta, media o baja exposición al glifosato. Para cada especie, se muestran los gráficos resultantes cuando el glifosato fue aplicado a las 5 o a las 10 semanas post-emergencia de las plántulas (aplicación temprana y tardía, respectivamente).

A. APLICACIÓN TEMPRANA

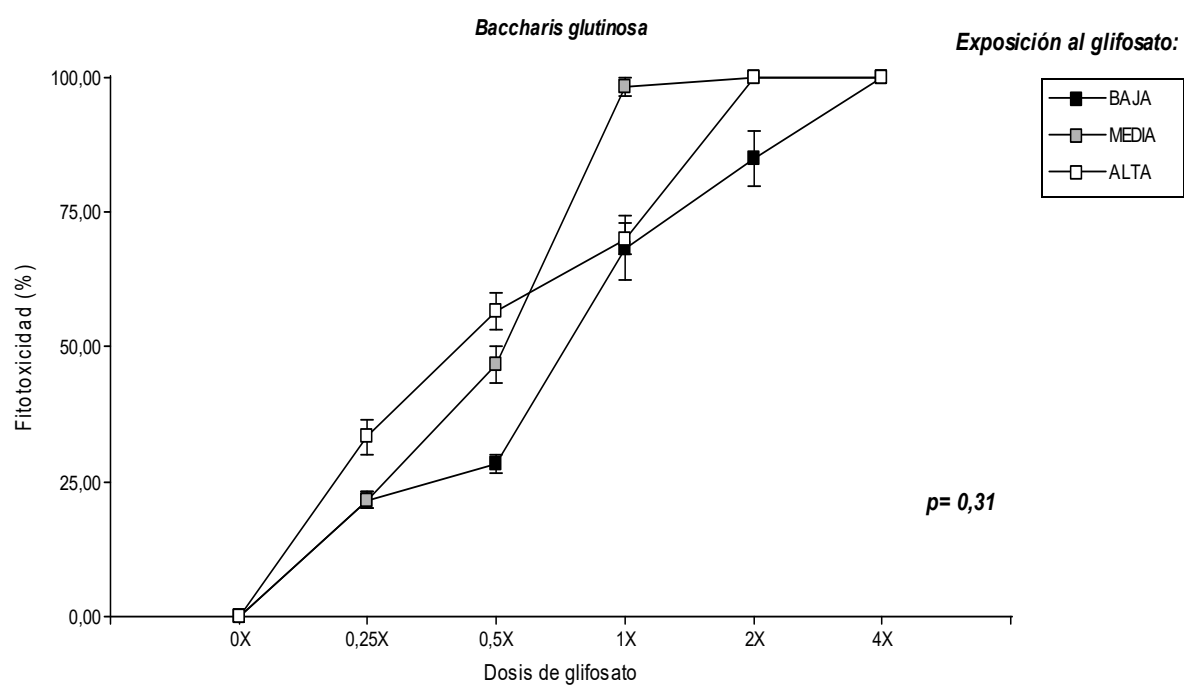
1. *Bidens subalternans*



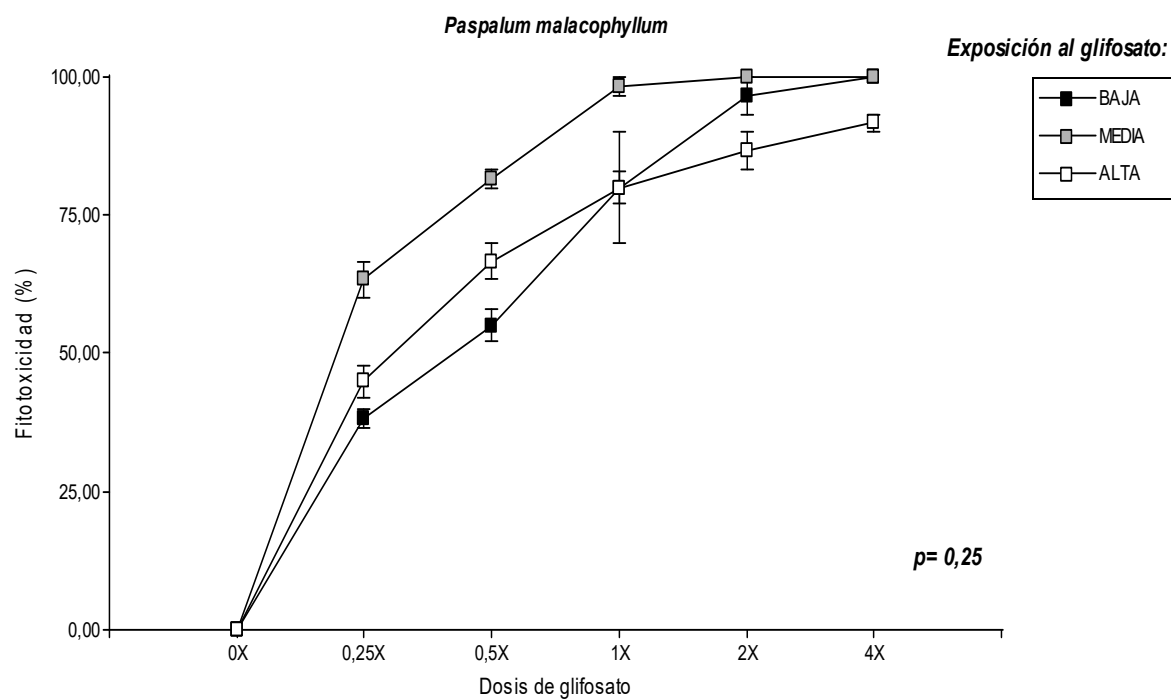
2. *Cyperus sp.*



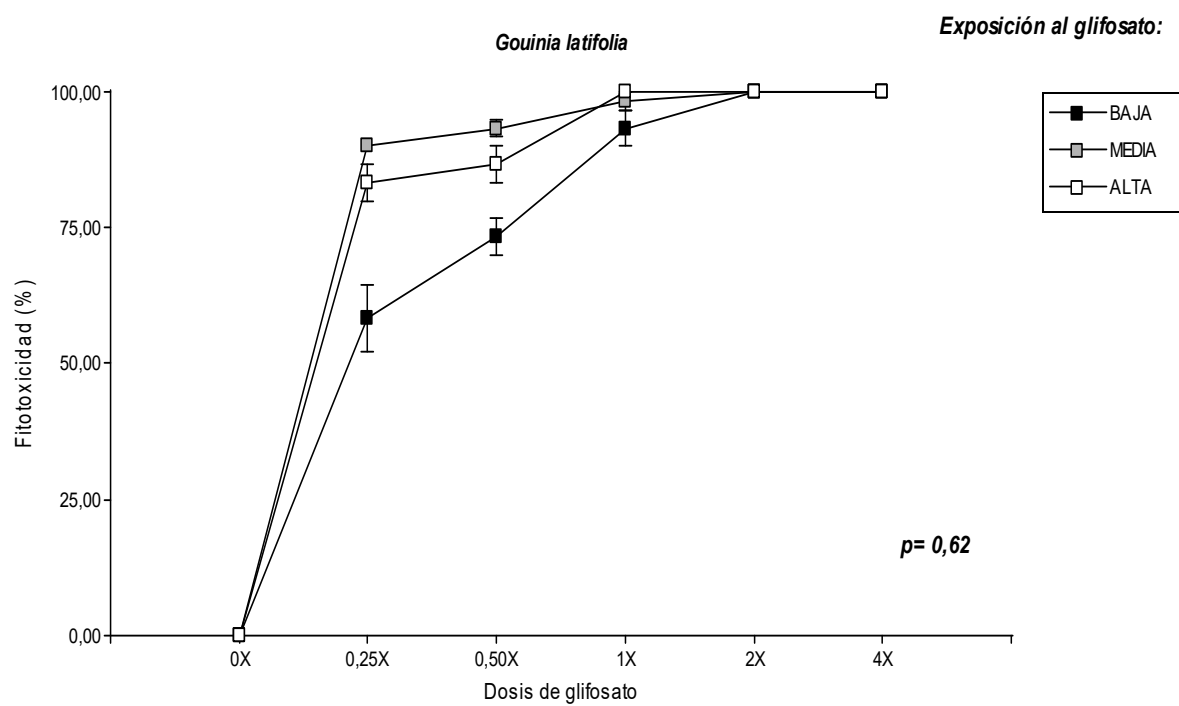
3. *Baccharis glutinosa*



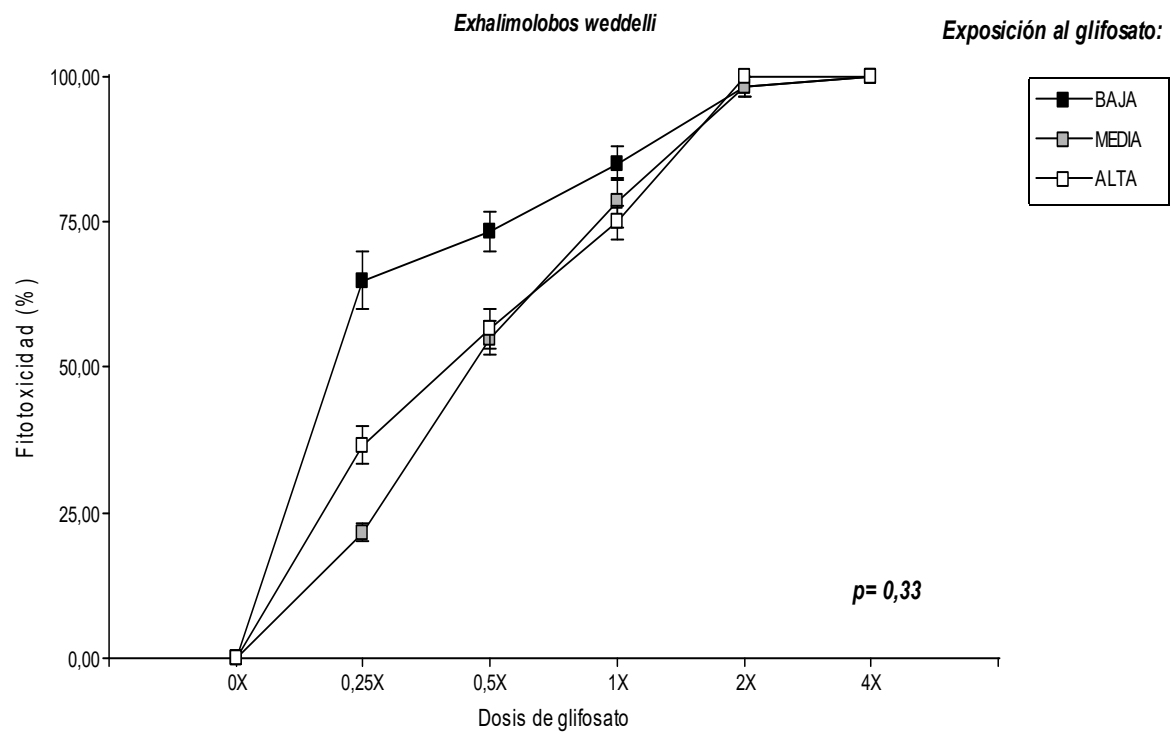
4. *Paspalum malacophyllum*



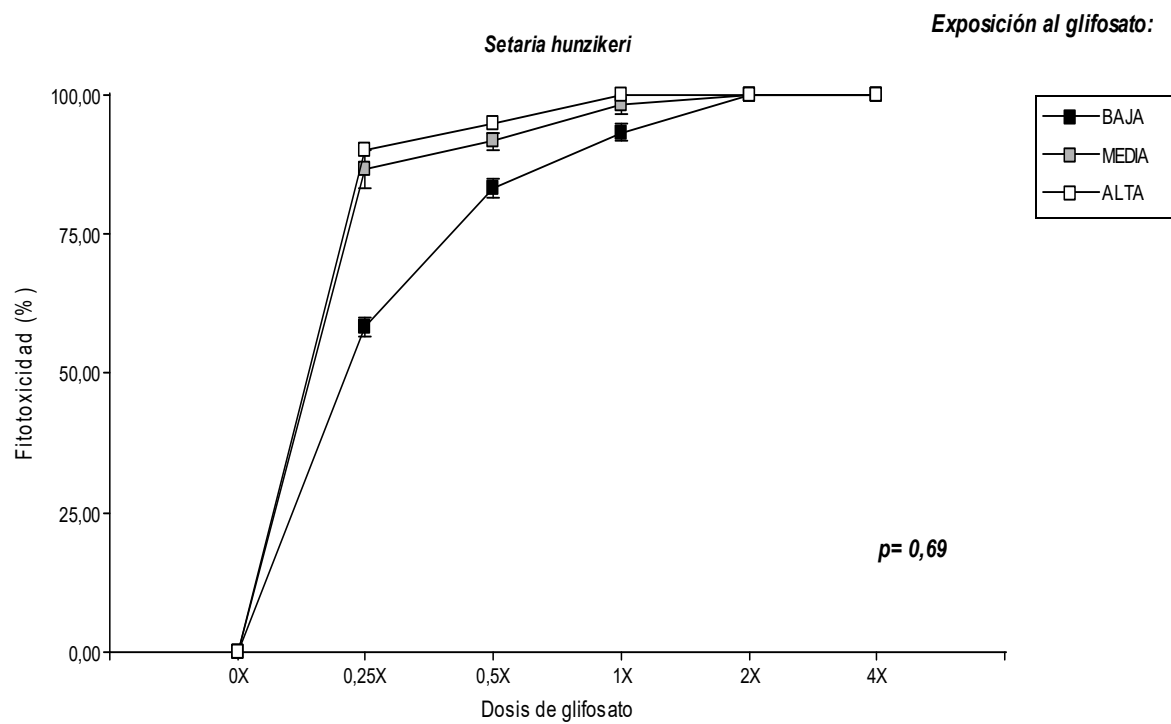
5. *Gouinia latifolia*



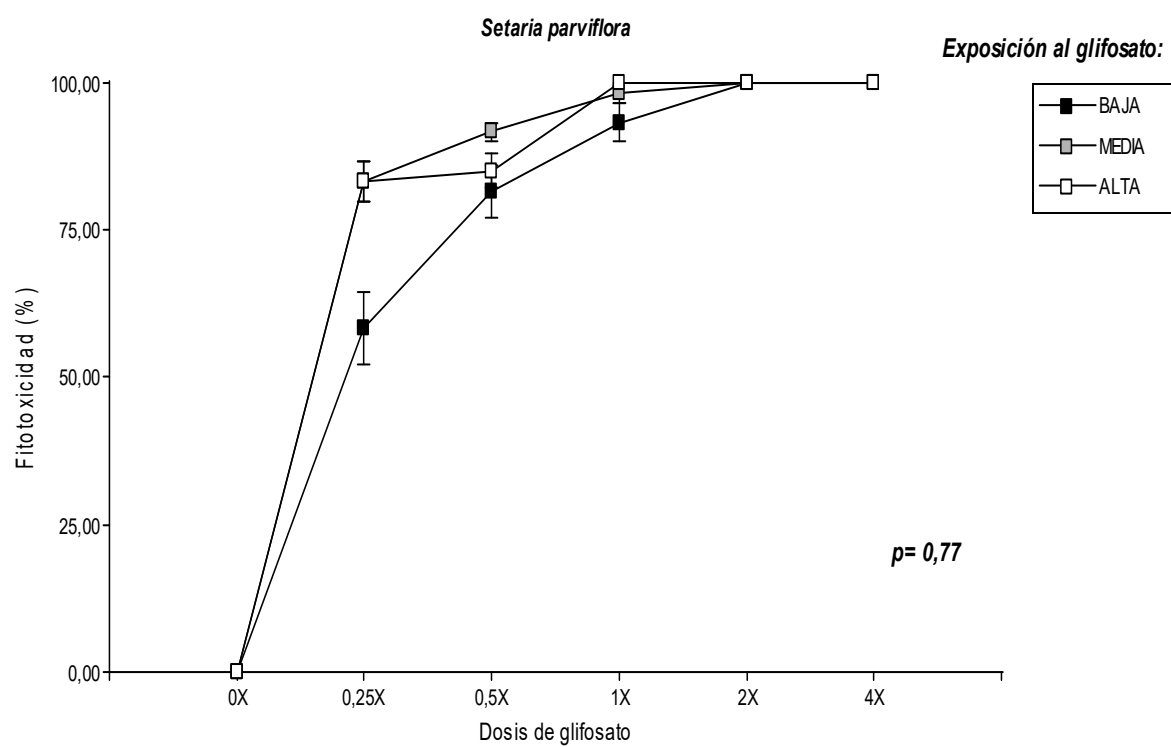
6. *Exhalimolobos weddellii*



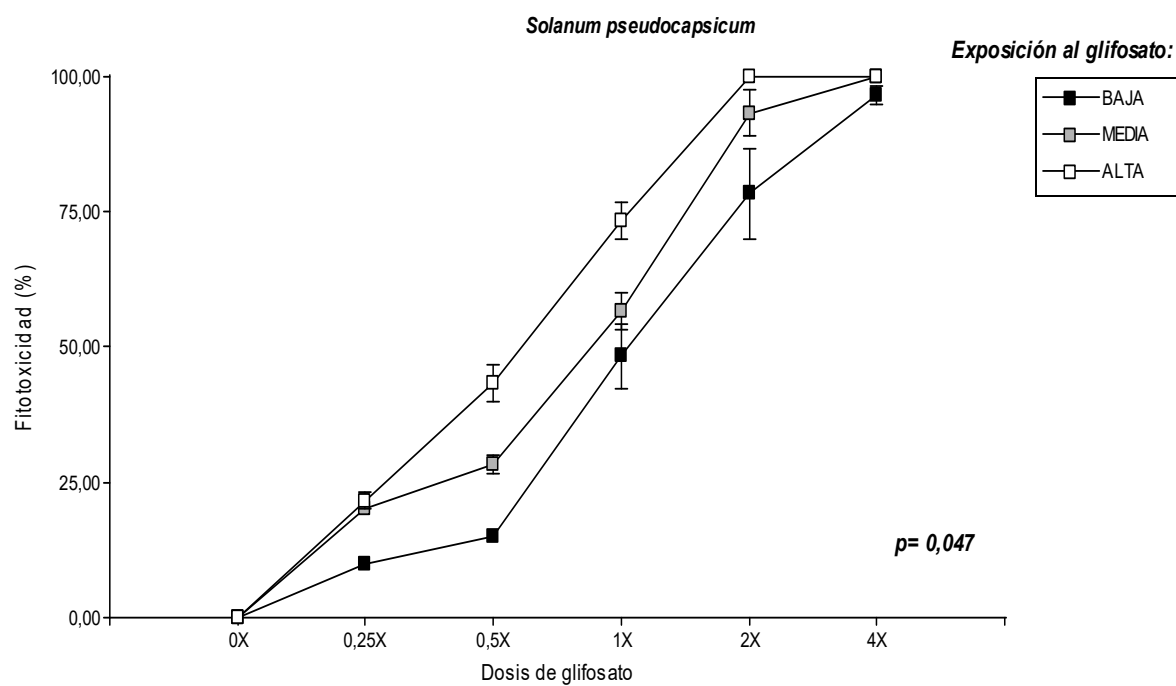
7. *Setaria hunzikeri*



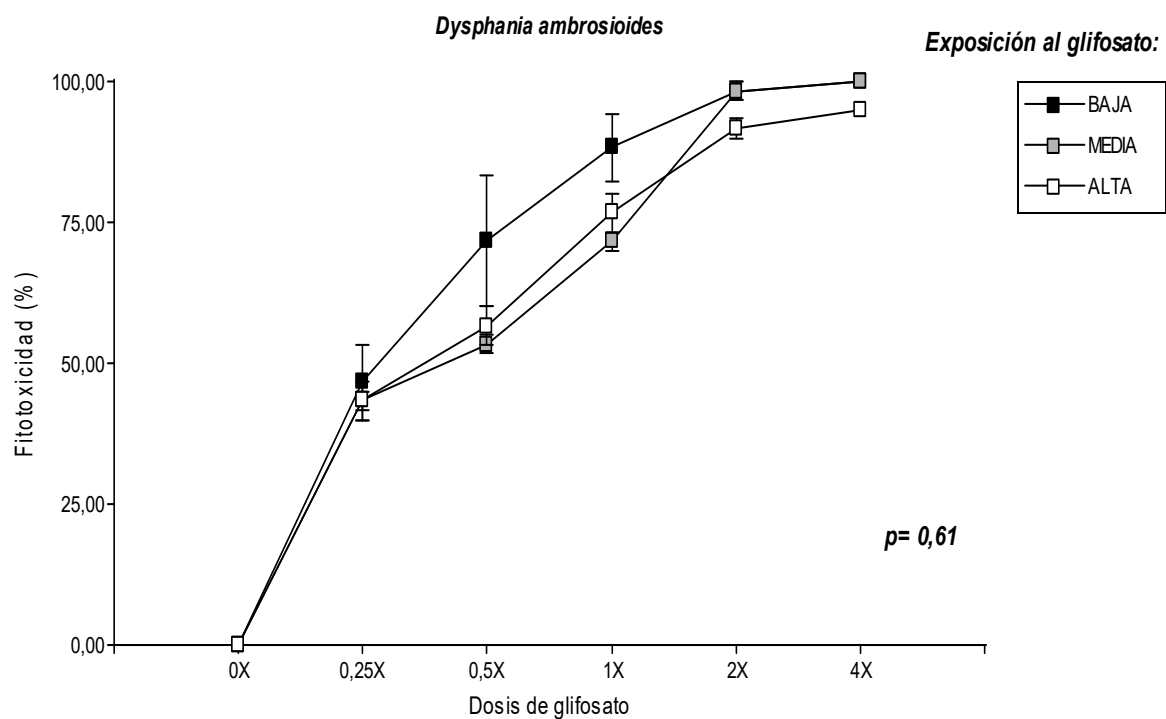
8. *Setaria parviflora*



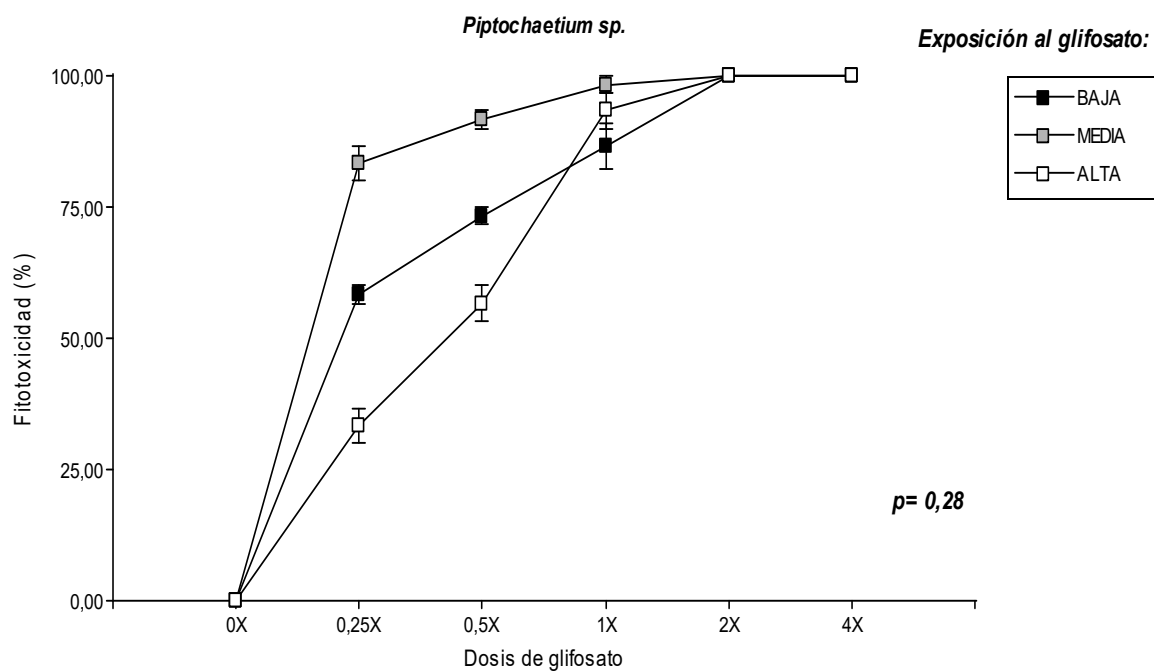
9. *Solanum pseudocapsicum*



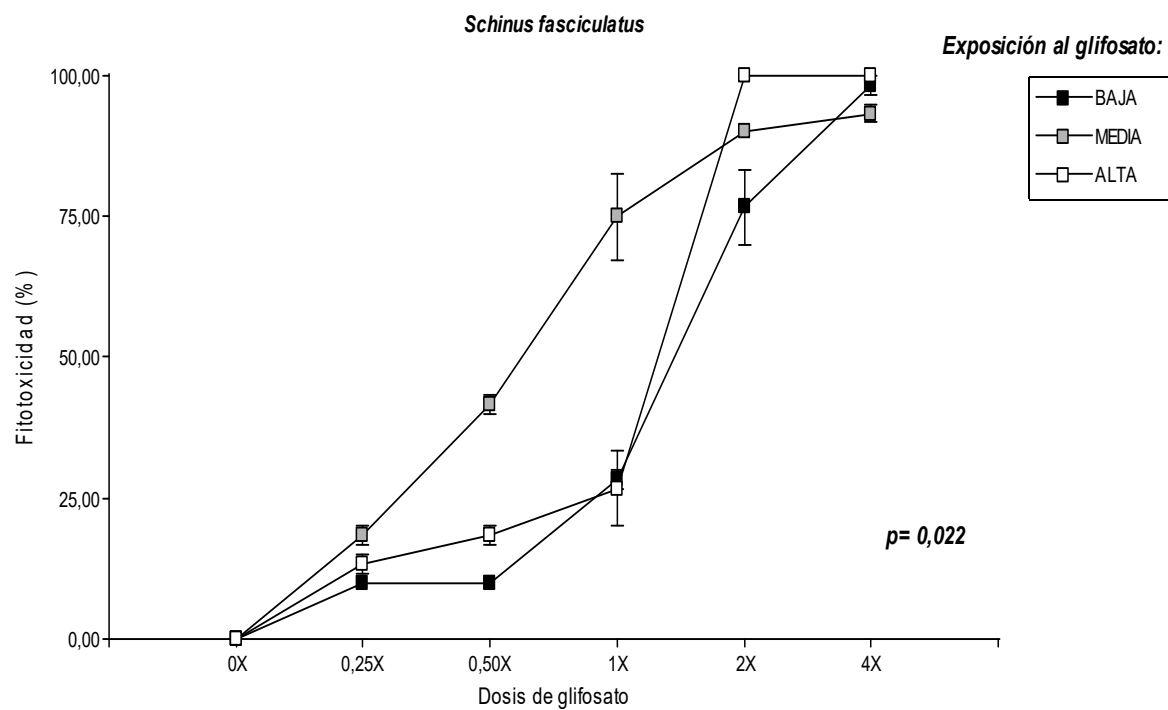
10. *Dysphania ambrosioides*



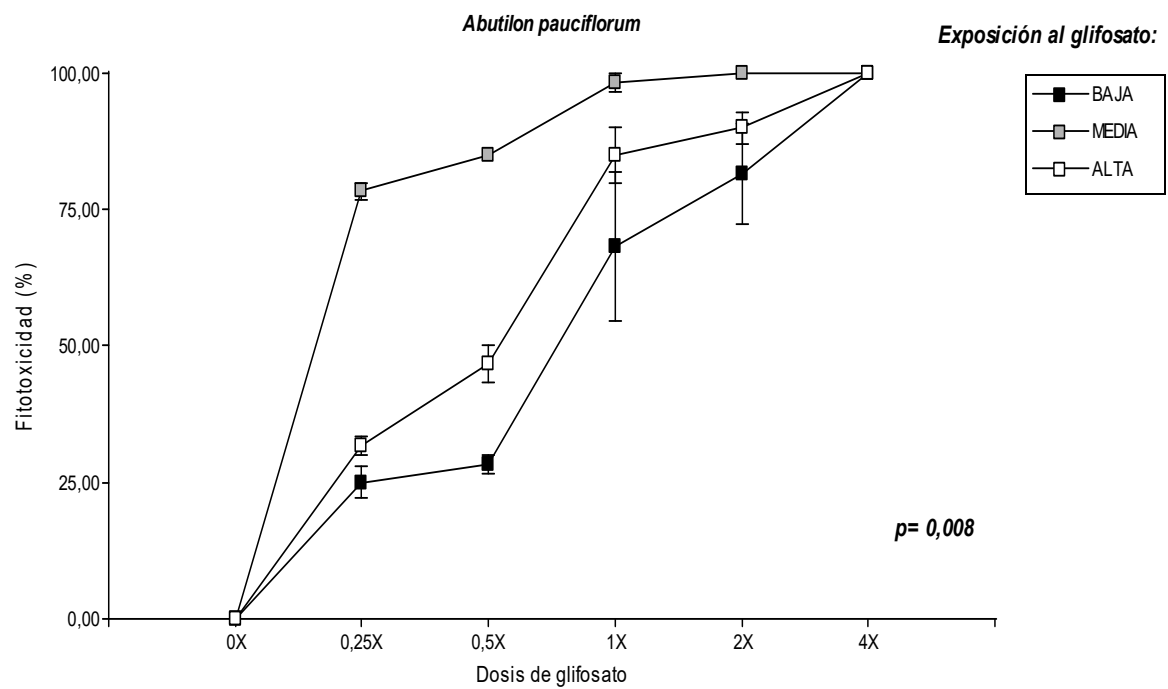
11. *Piptochaetium* sp.



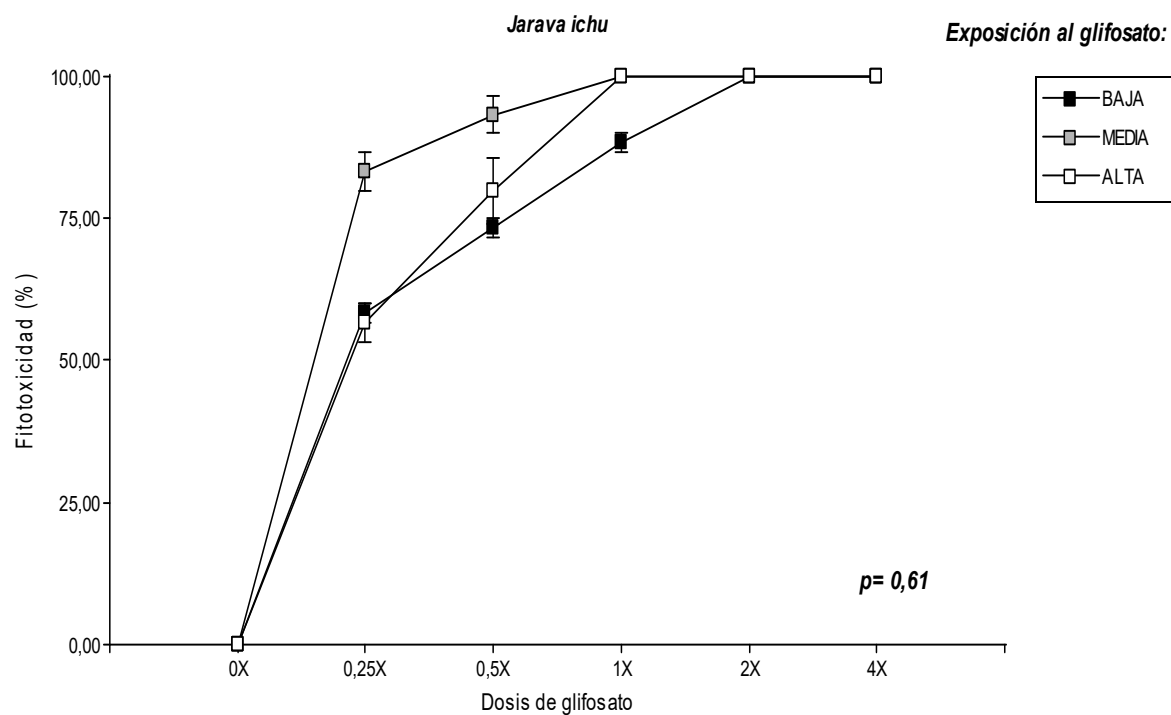
12. *Schinus fasciculatus*



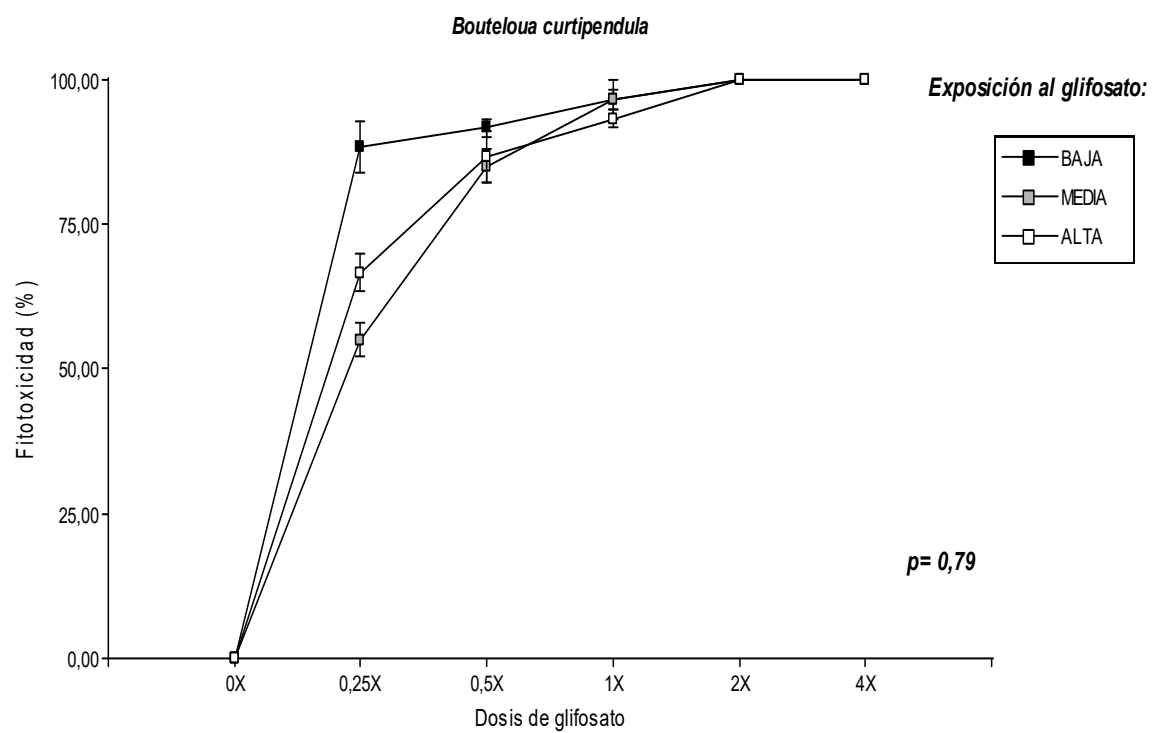
13. *Abutilon pauciflorum*



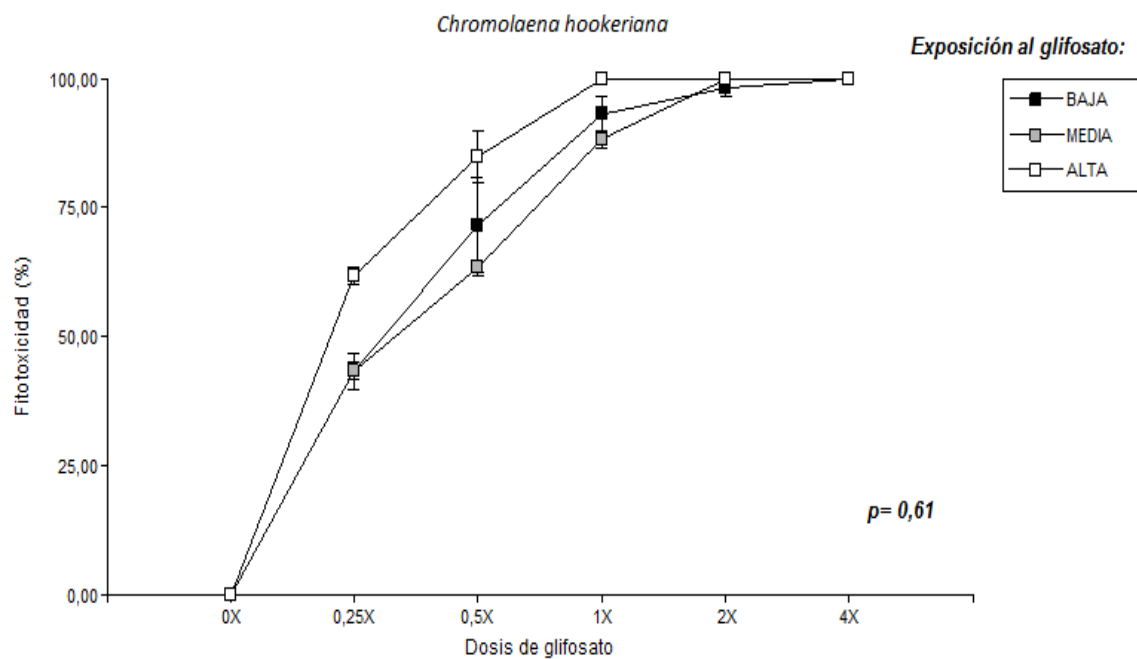
14. *Jarava ichu*



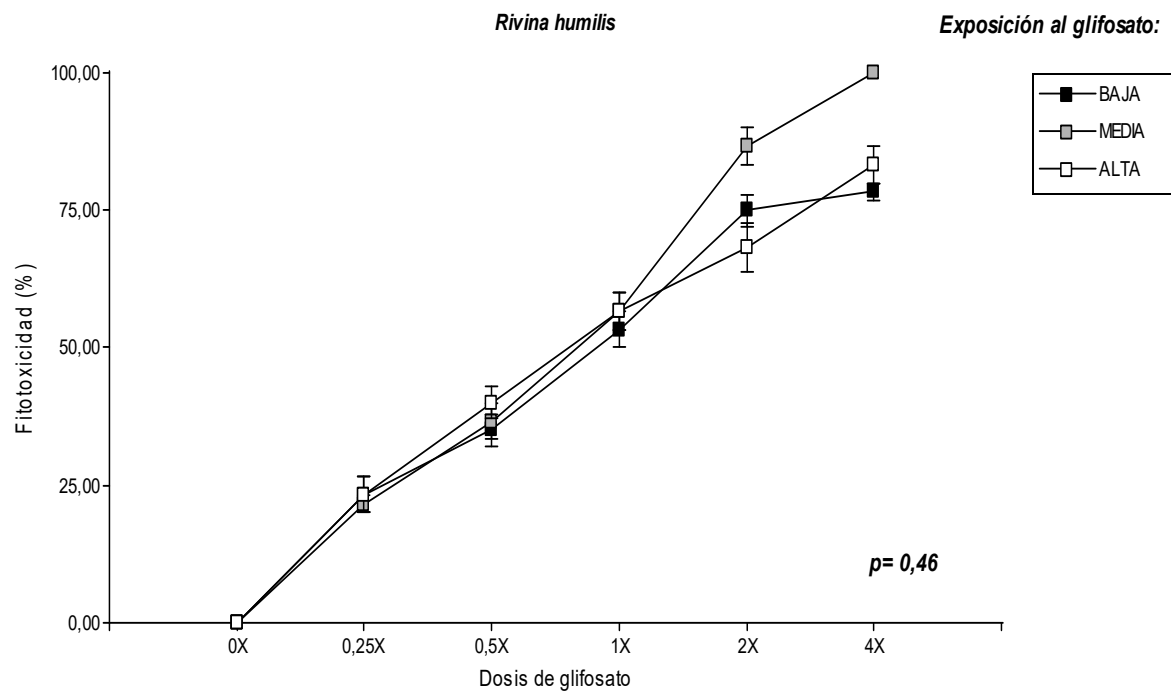
15. *Bouteloua curtipendula*



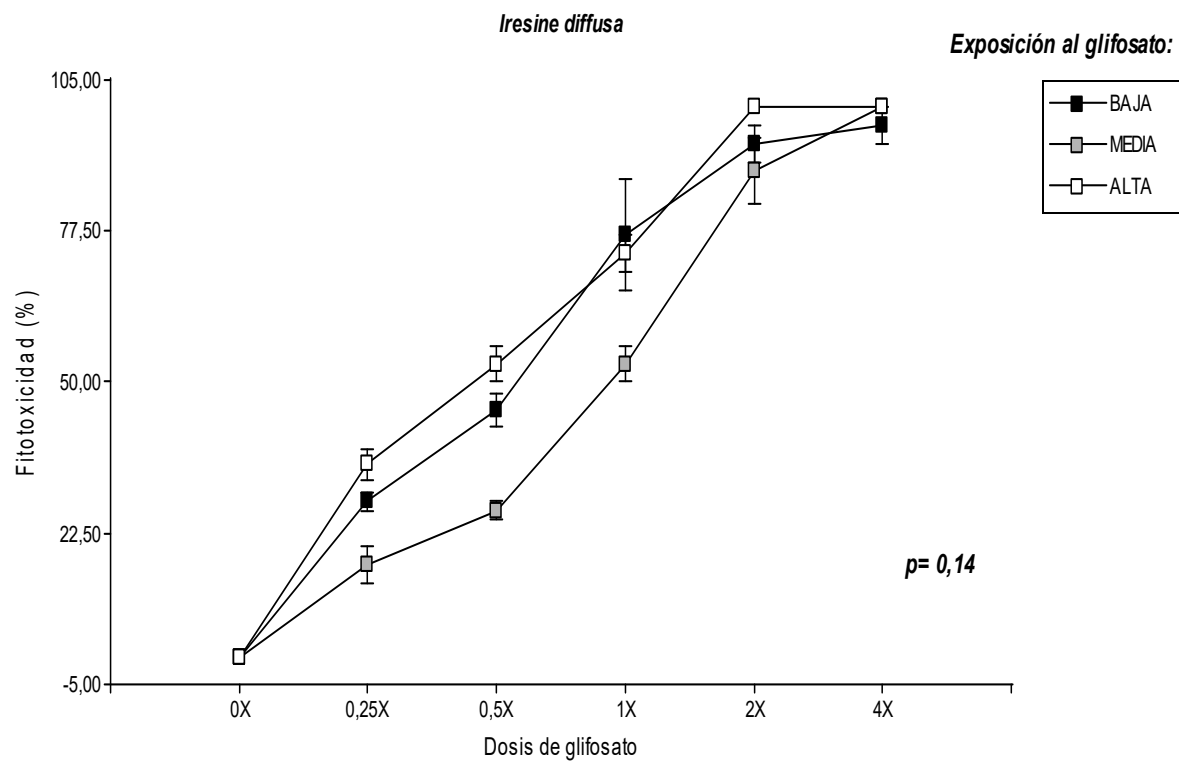
16. *Chromolaena hookeriana*



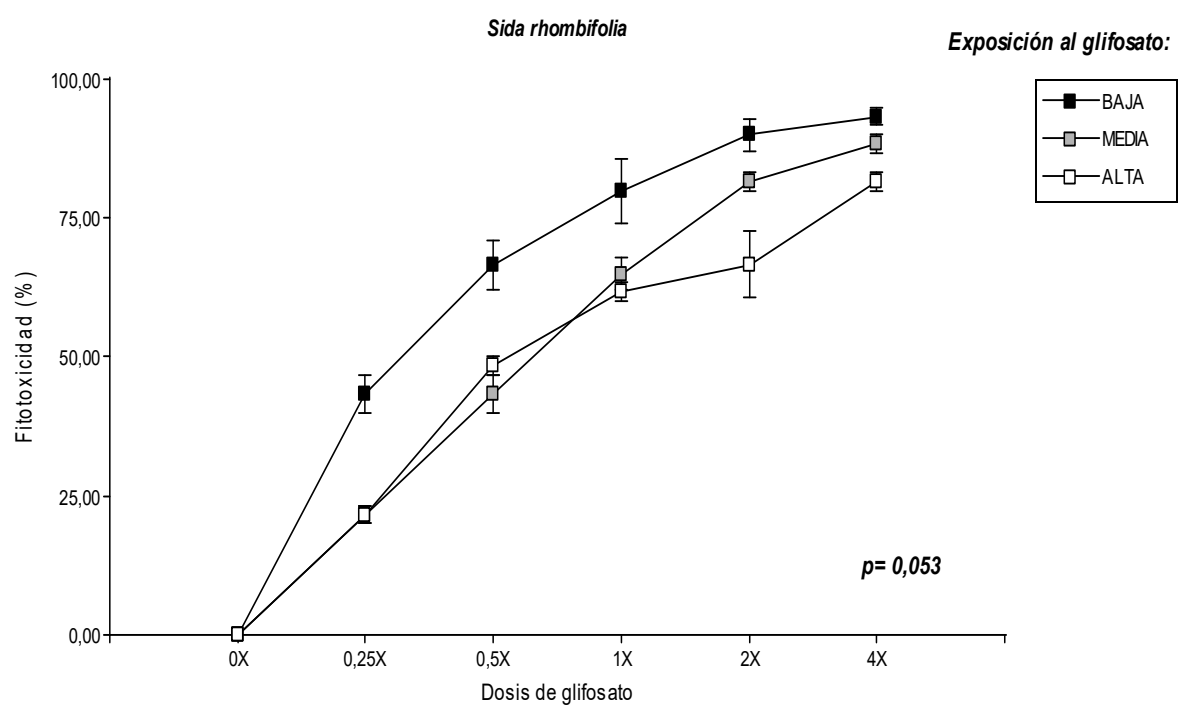
17. *Rivina humilis*



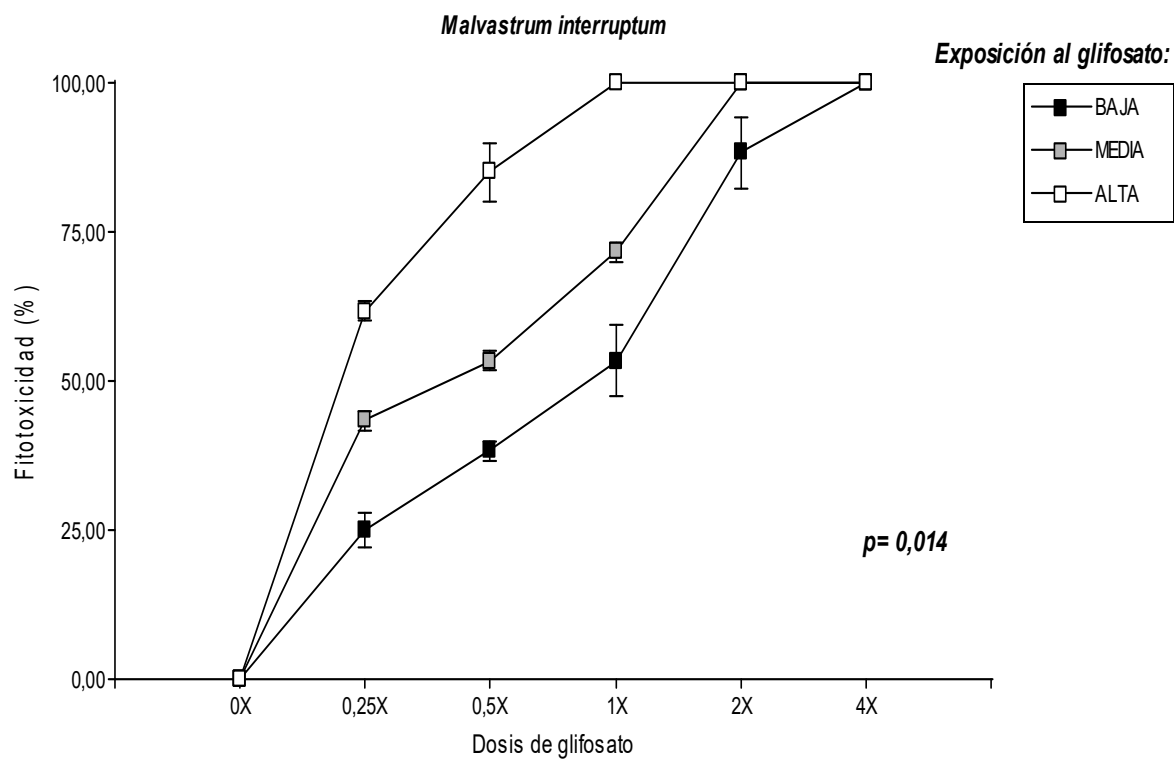
18. *Iresine diffusa*



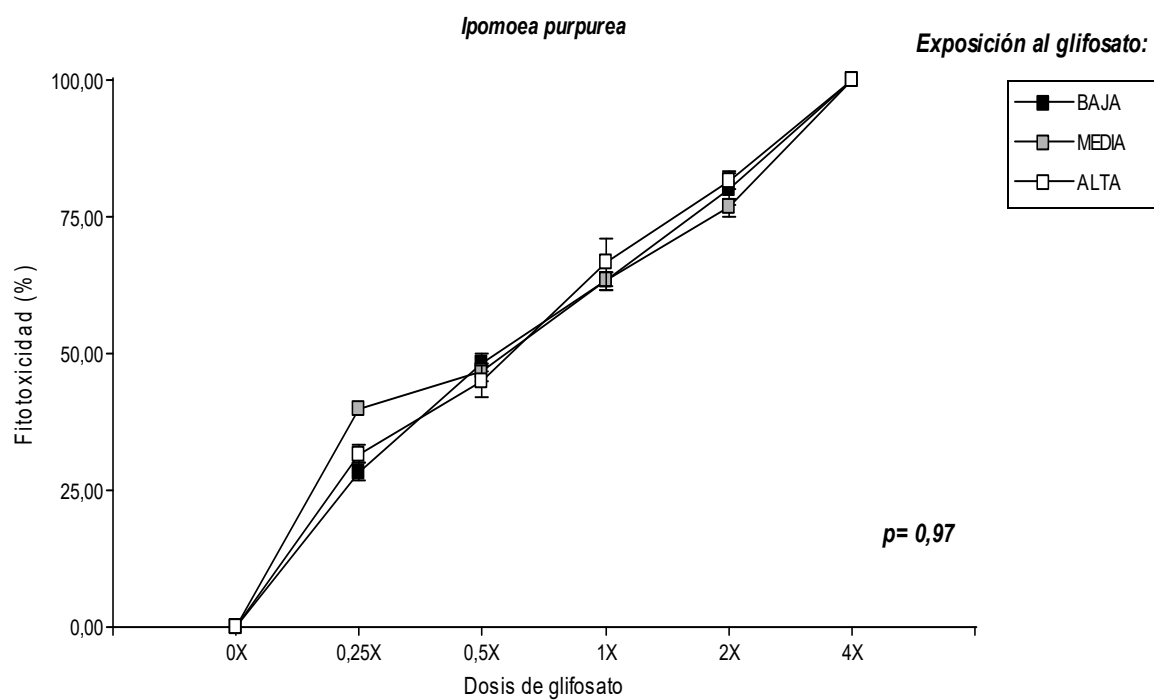
19. *Sida rhombifolia*



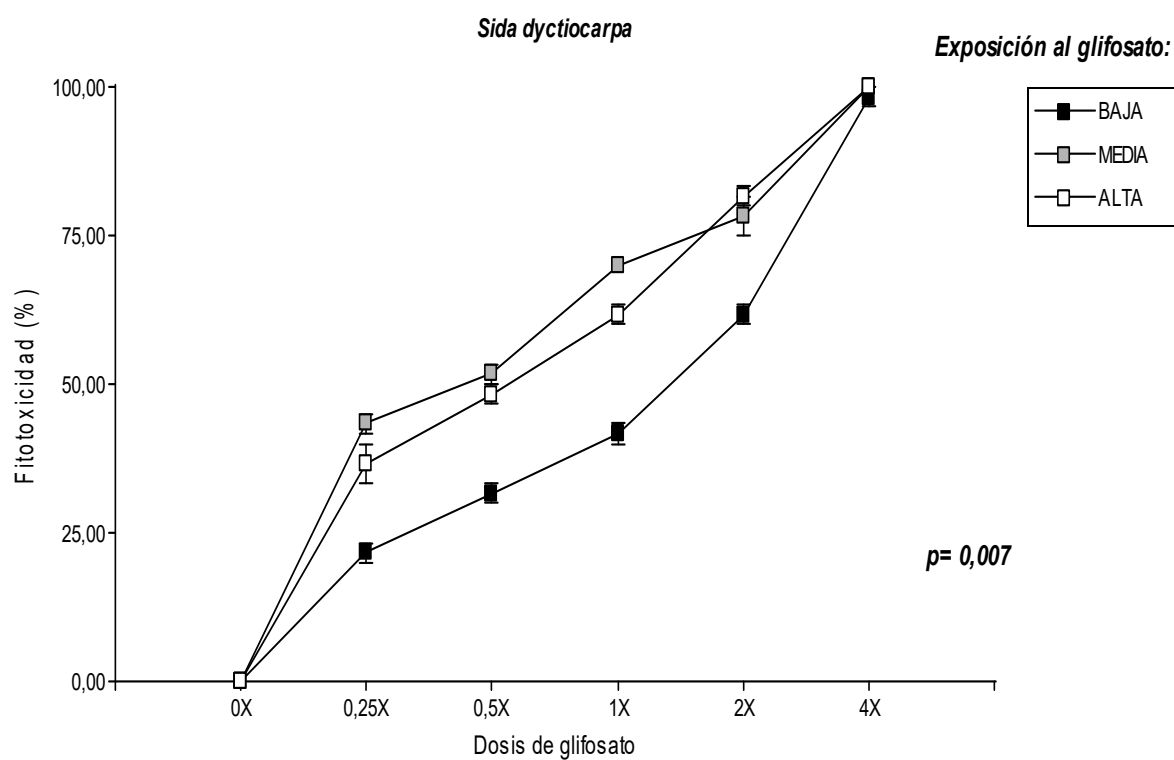
20. *Malvastrum interruptum*



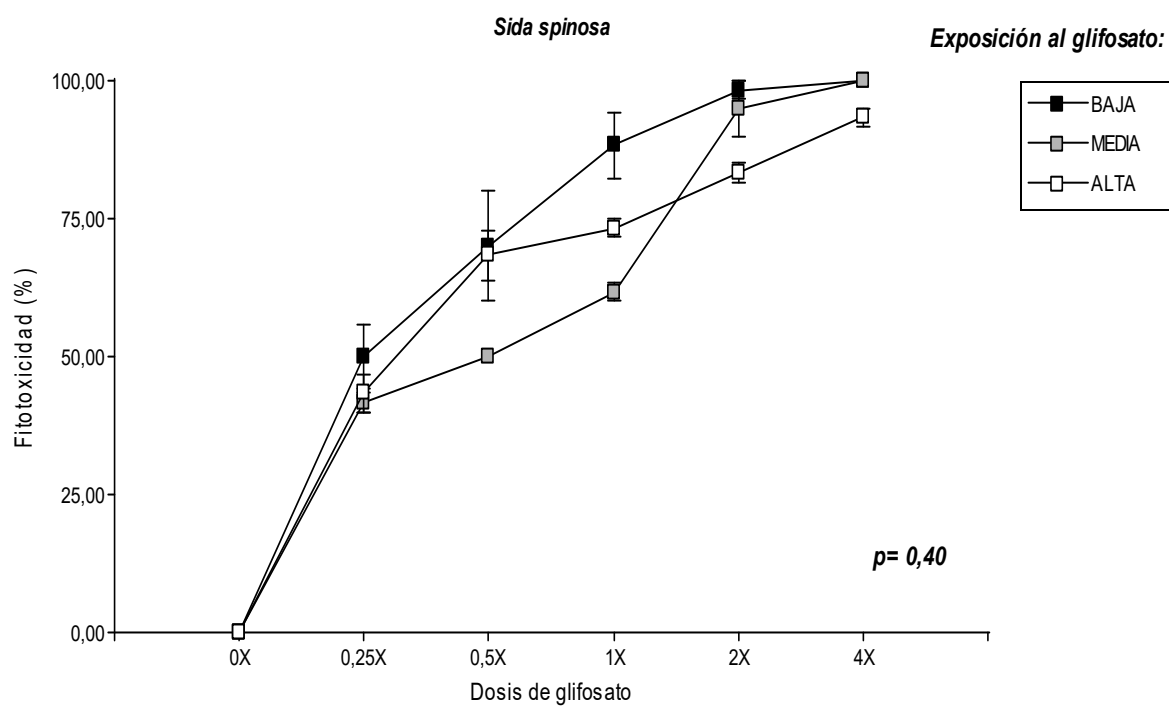
21. *Ipomoea purpurea*



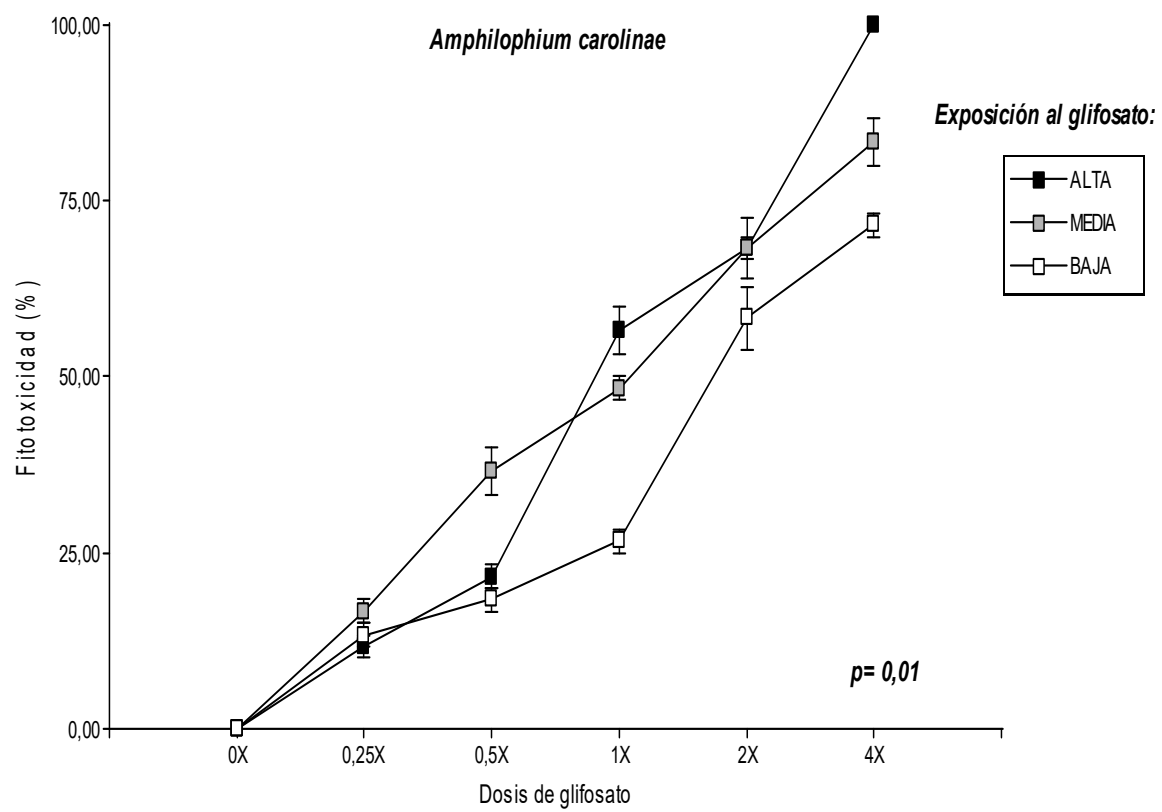
22. *Sida dyctiocarpa*



23. *Sida spinosa*

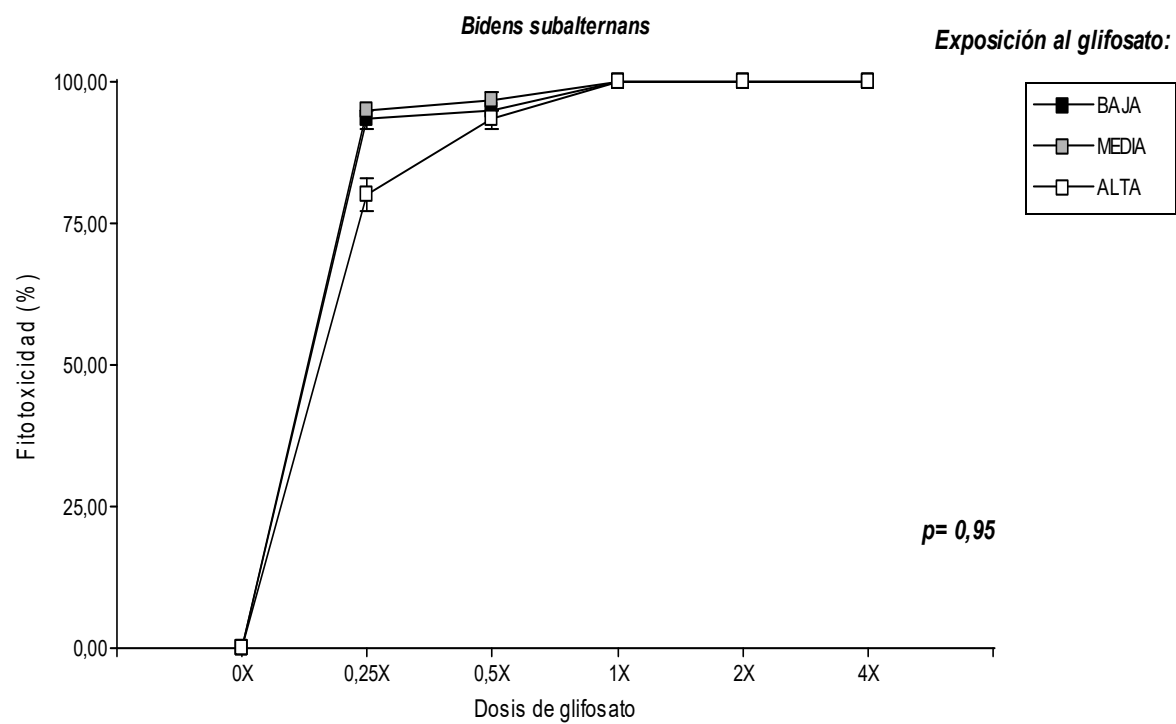


24. *Amphilophium carolinae*

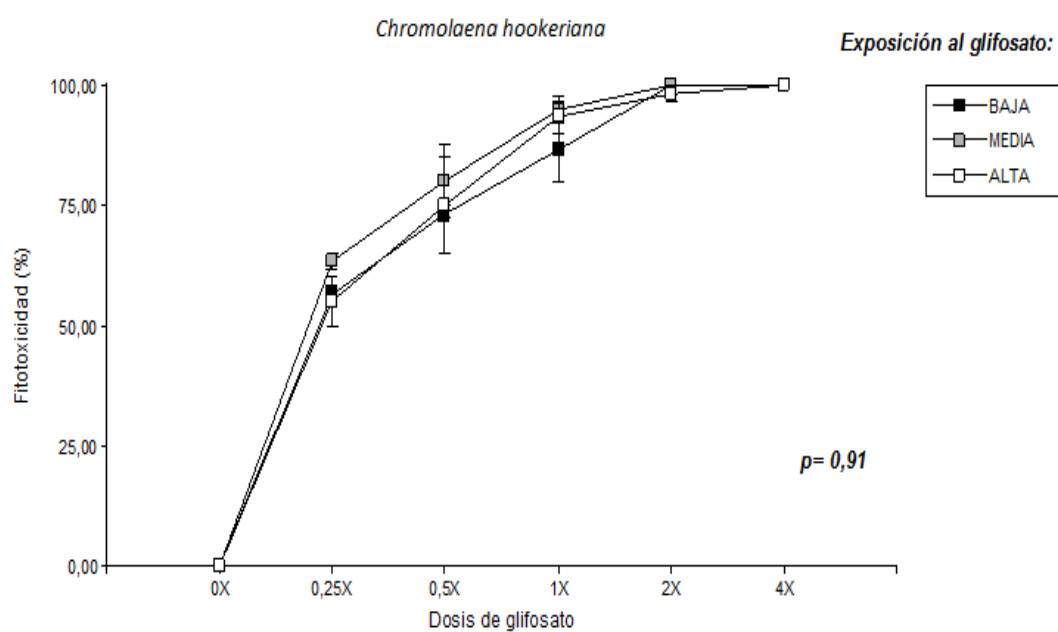


B. APLICACIÓN TARDÍA

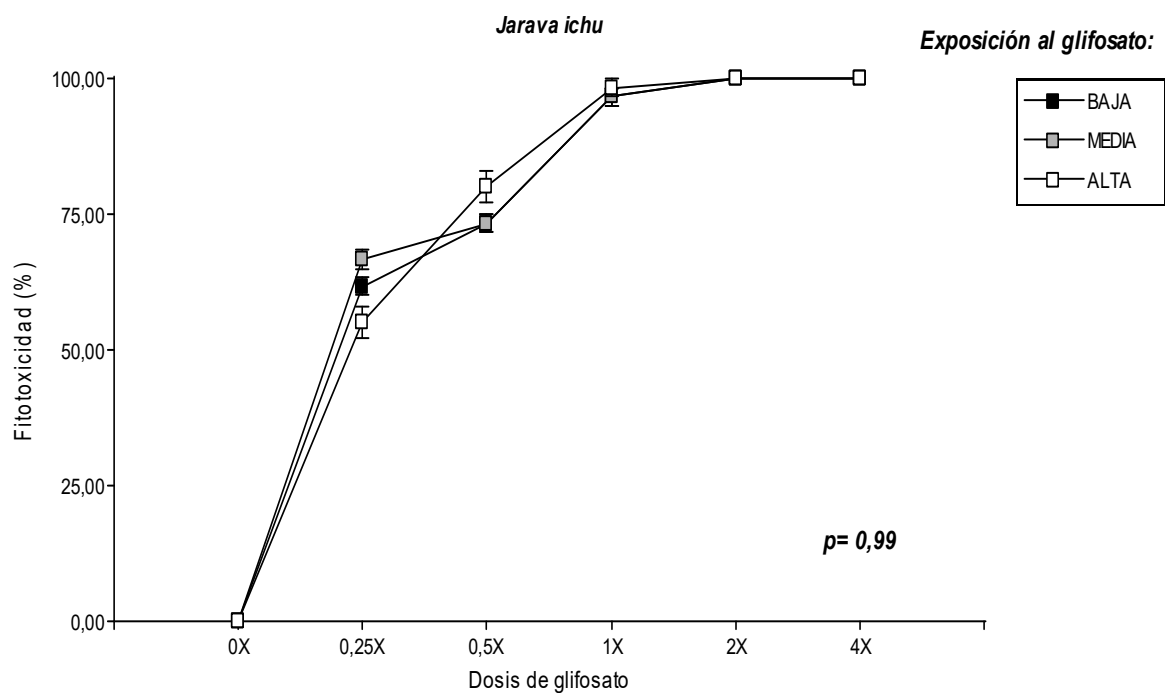
1. *Bidens subalternans*



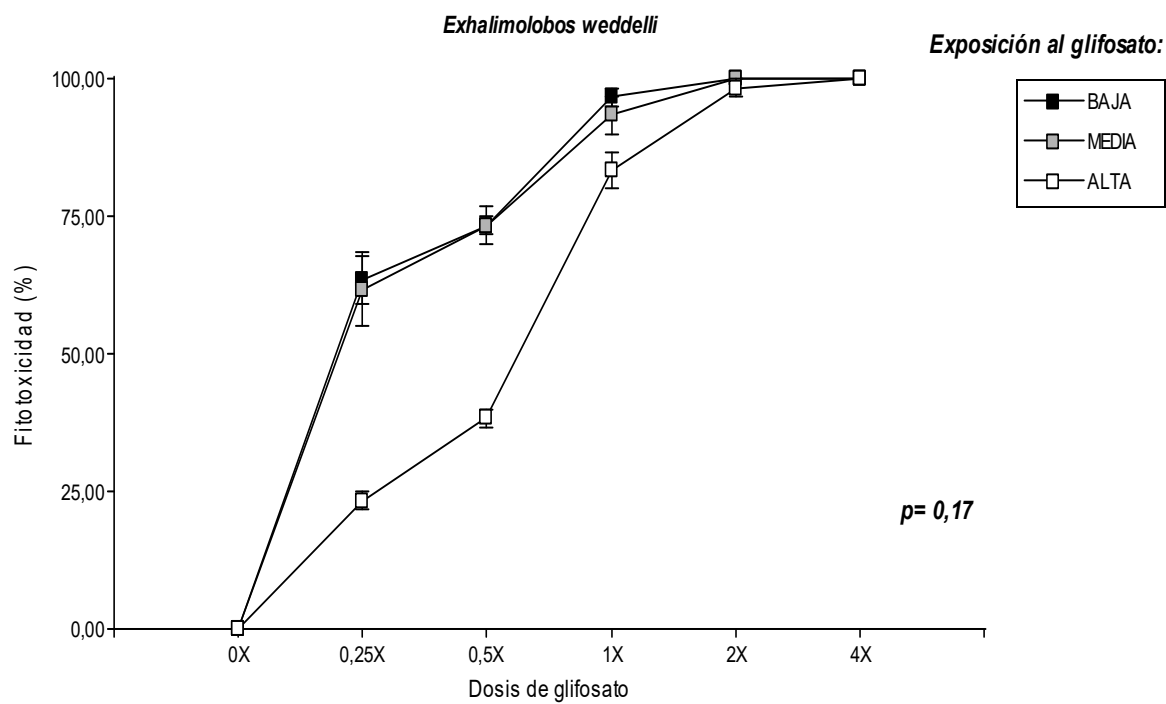
2. *Chromolaena hookeriana*



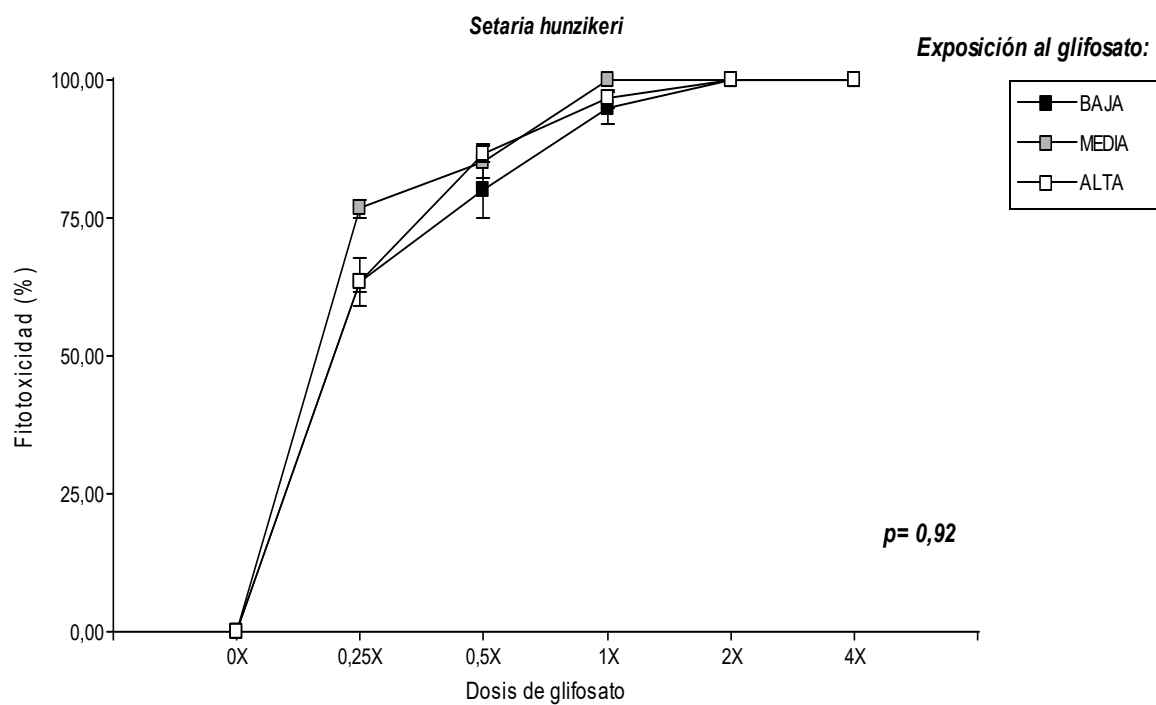
3. *Jarava ichu*



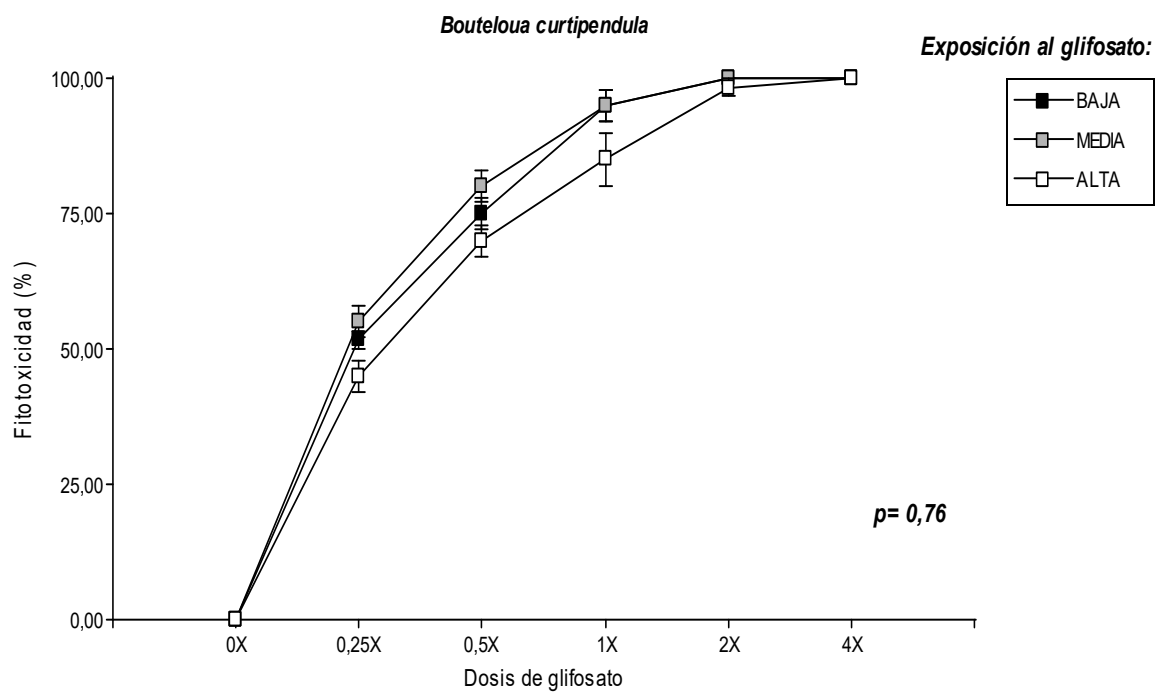
4. *Exhalimolobos weddellii*



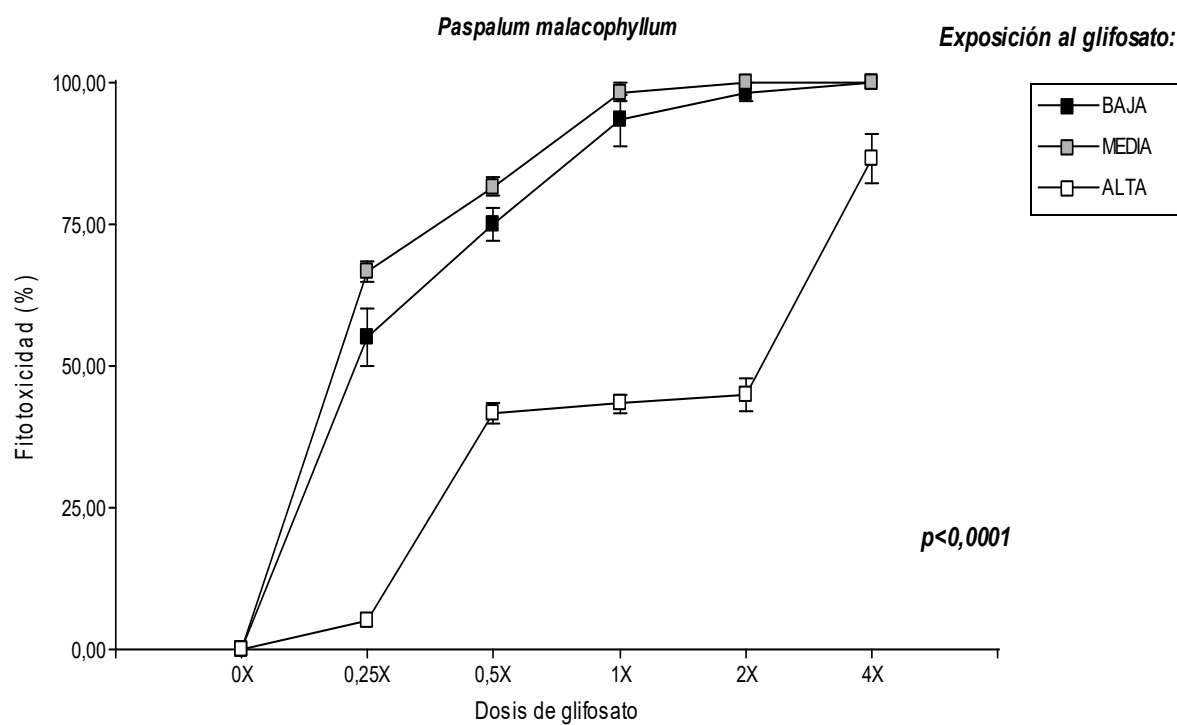
5. *Setaria hunzikeri*



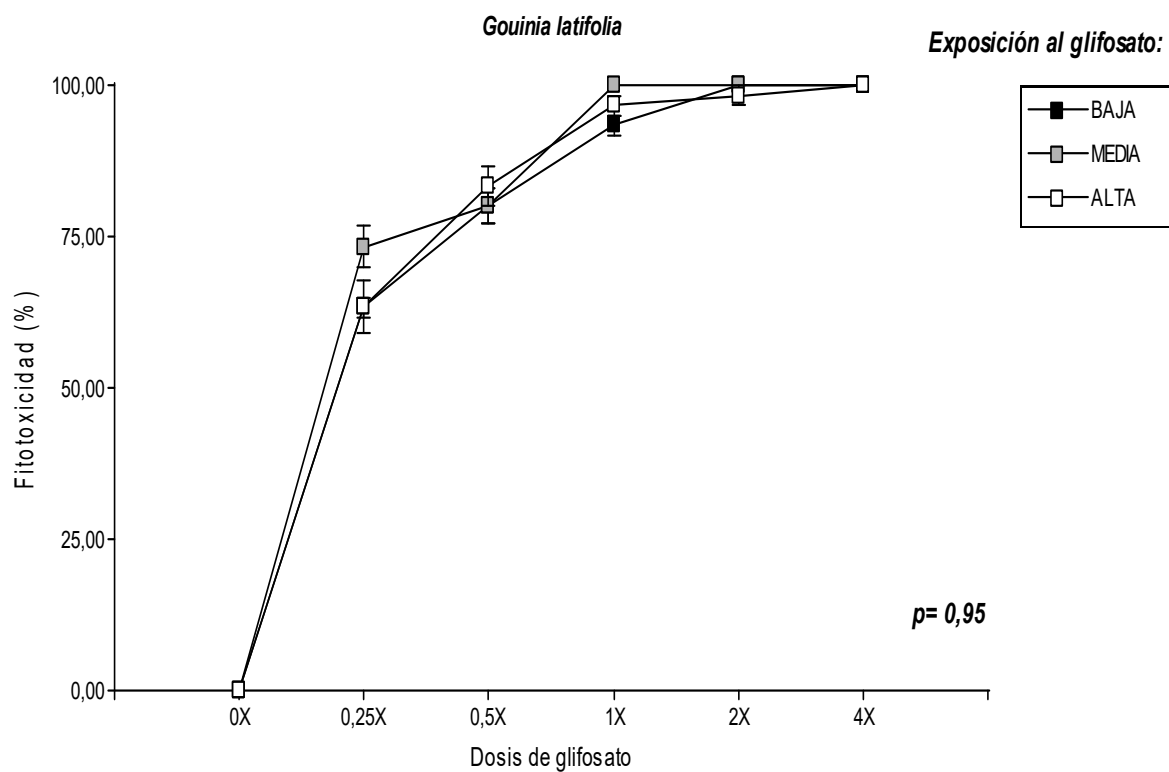
6. *Bouteloua curtipendula*



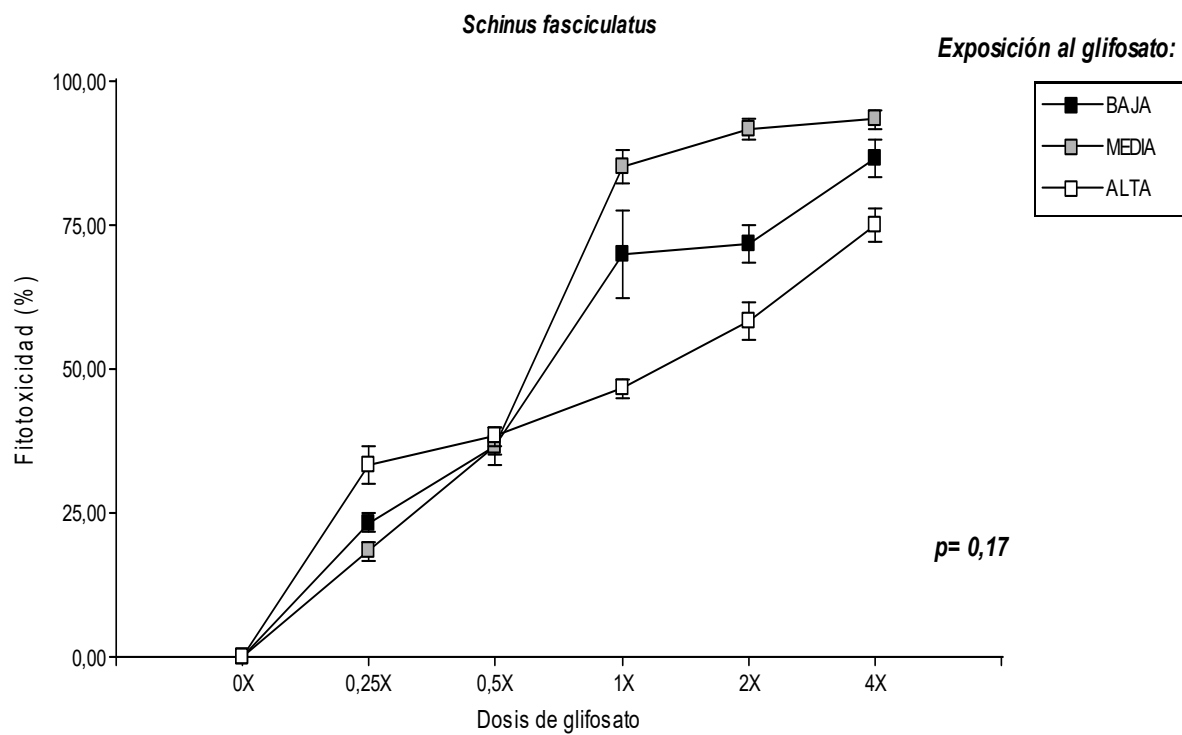
7. *Paspalum malacophyllum*



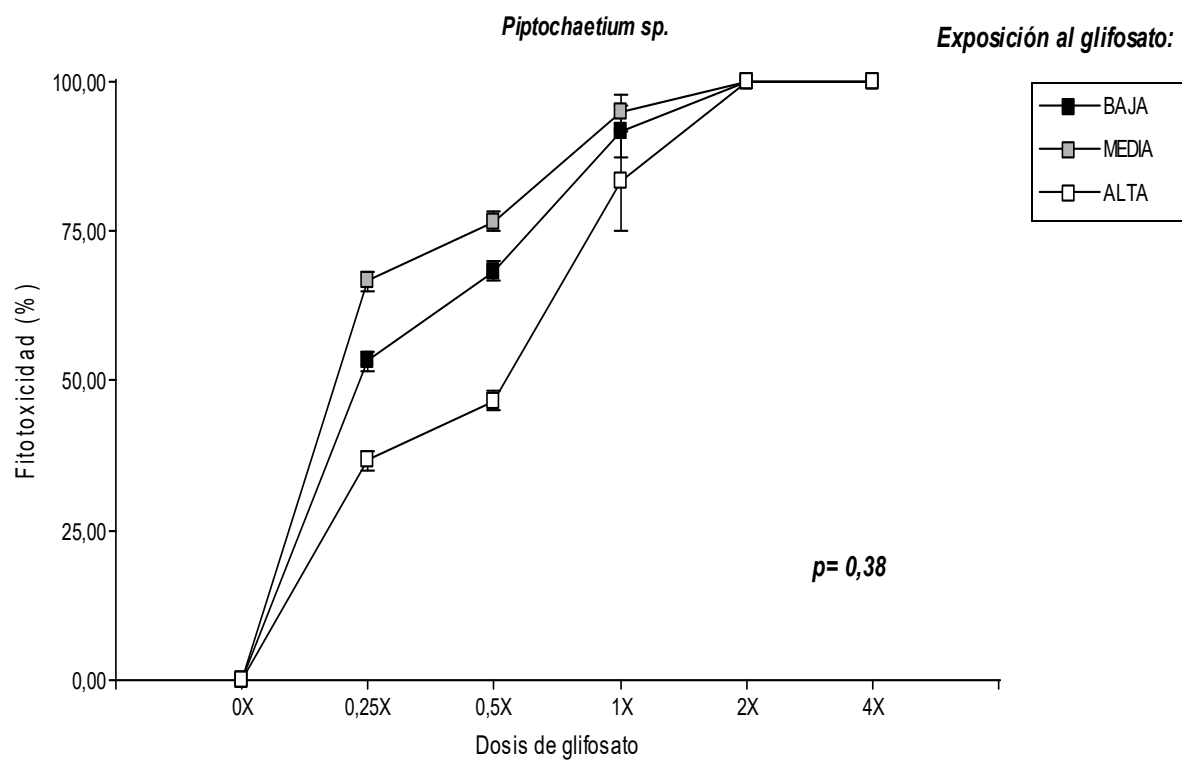
8. *Gouinia latifolia*



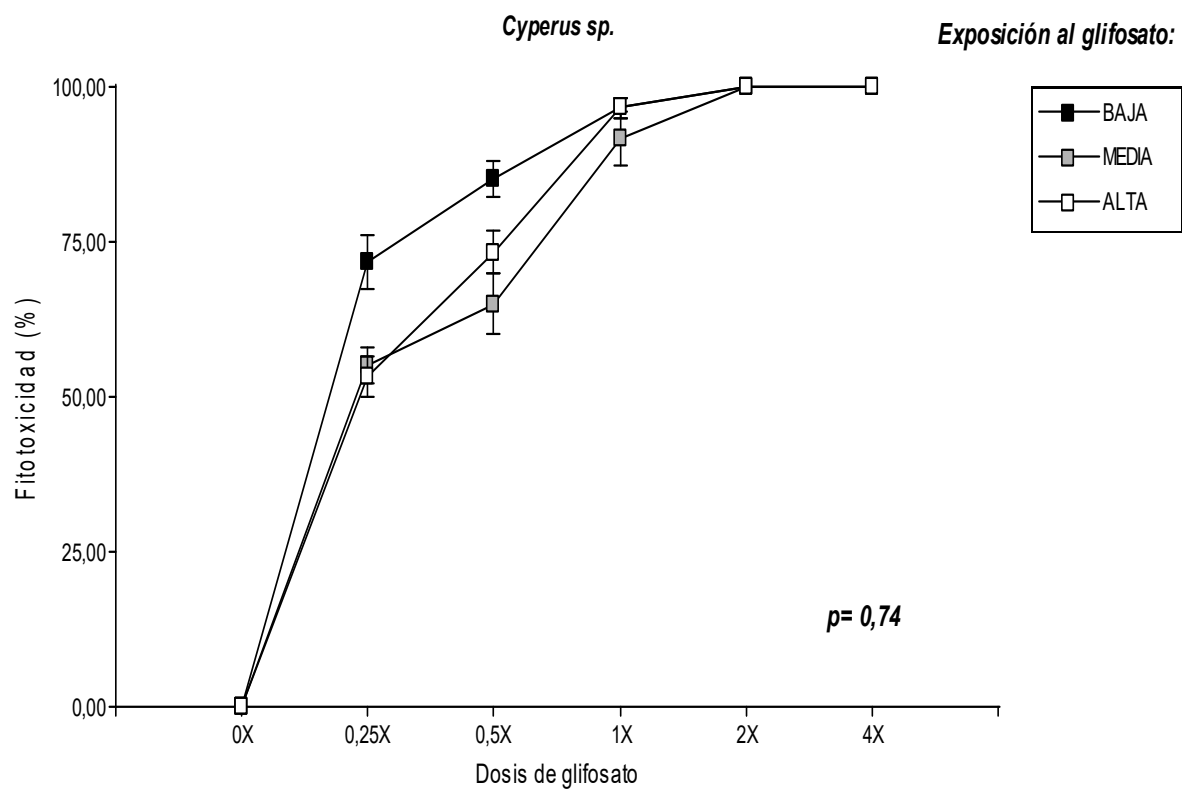
9. *Schinus fasciculatus*



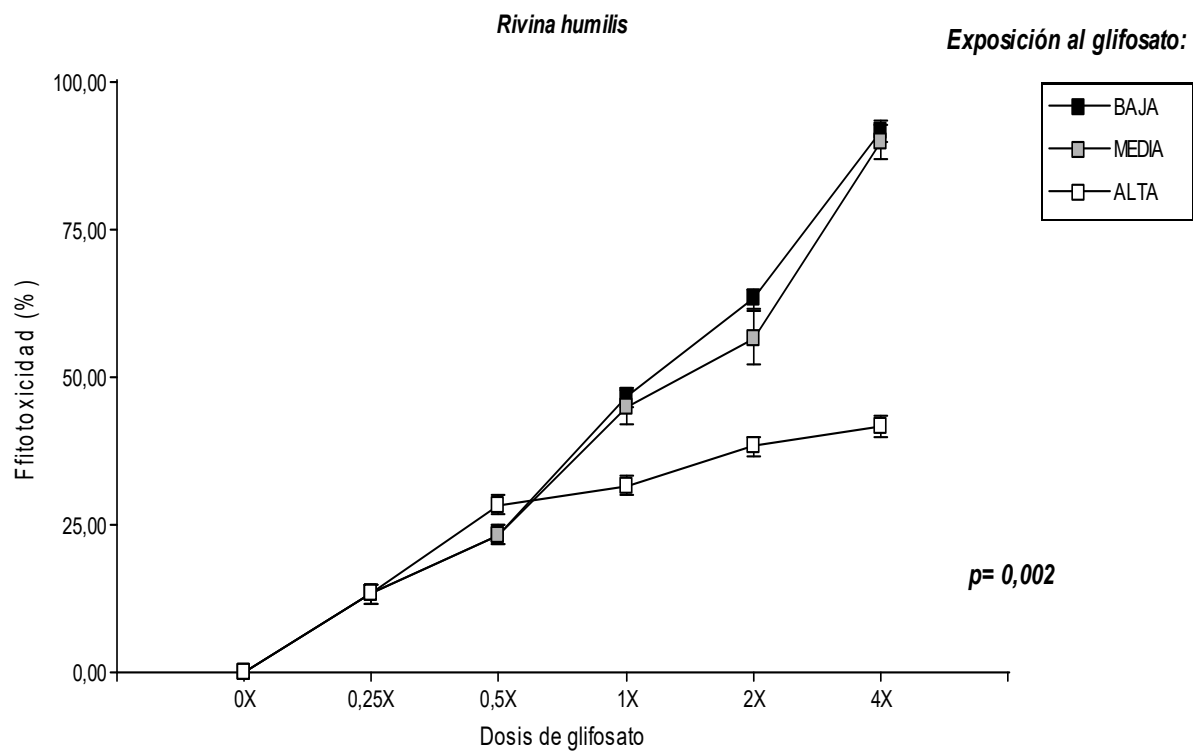
10. *Piptochaetium* sp.



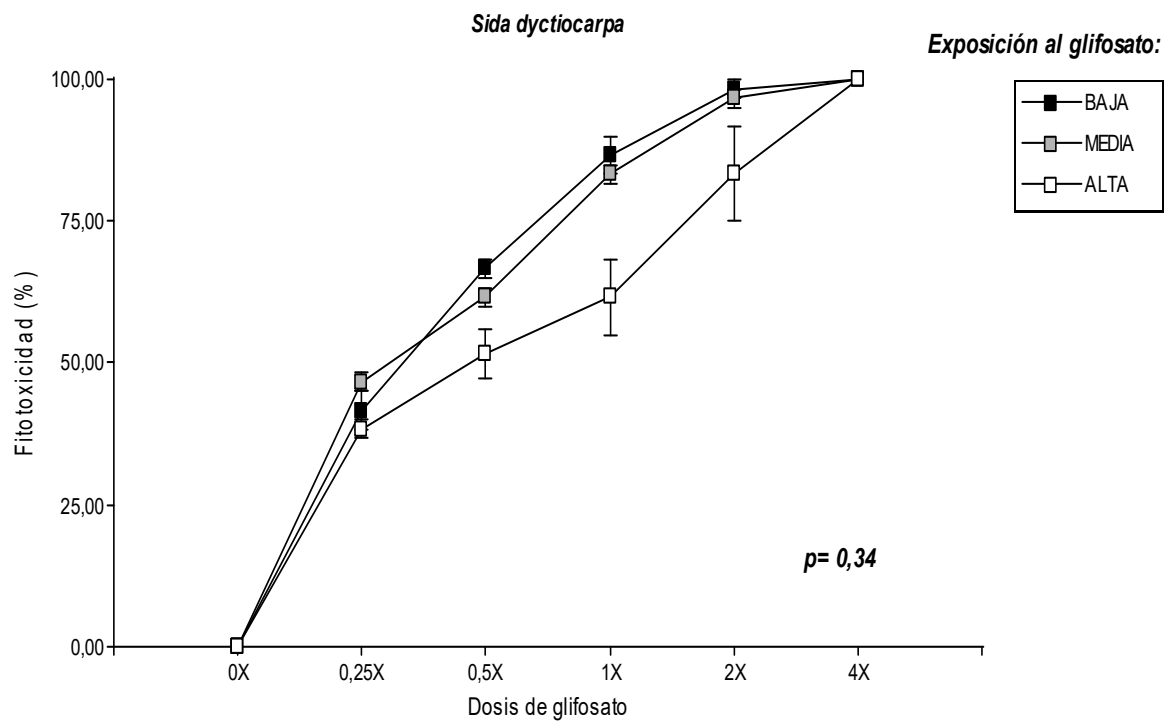
11. *Cyperus* sp.



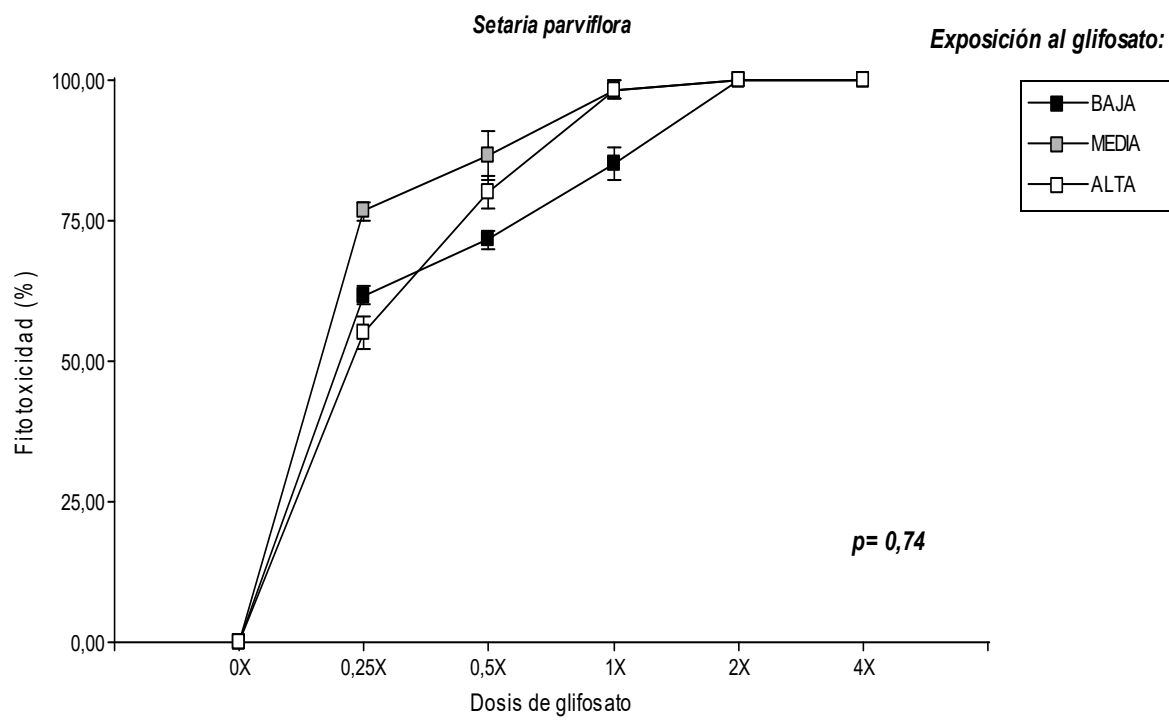
12. *Rivina humilis*



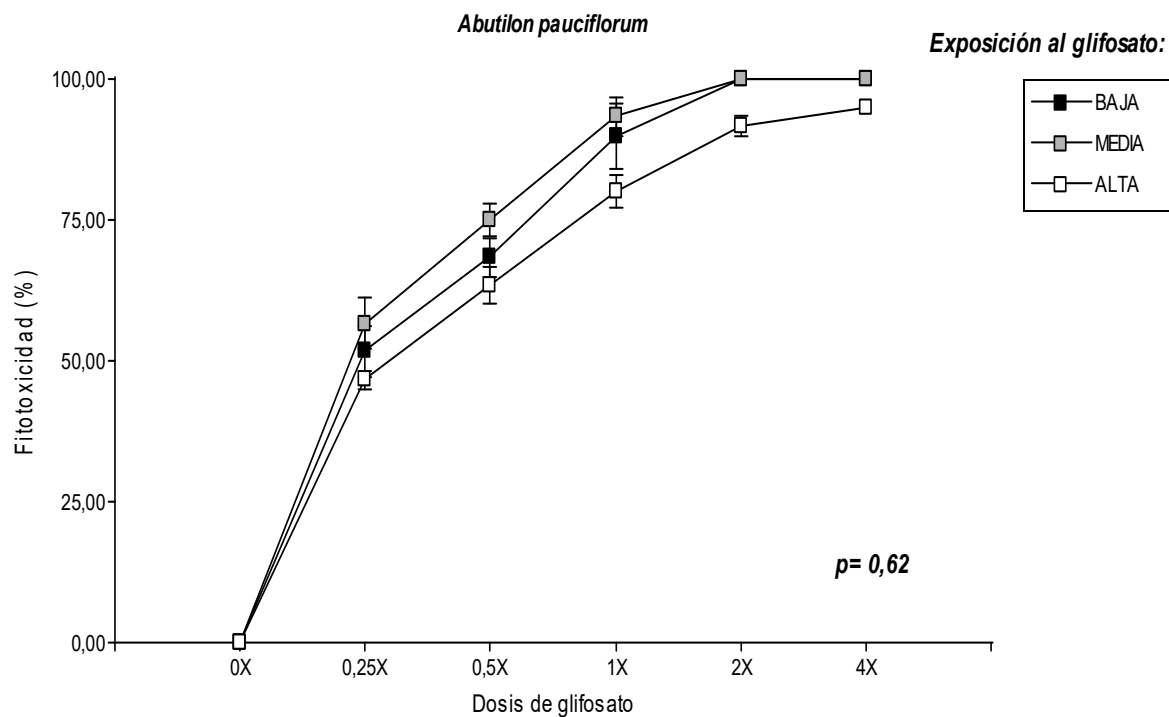
13. *Sida dyctiocarpa*



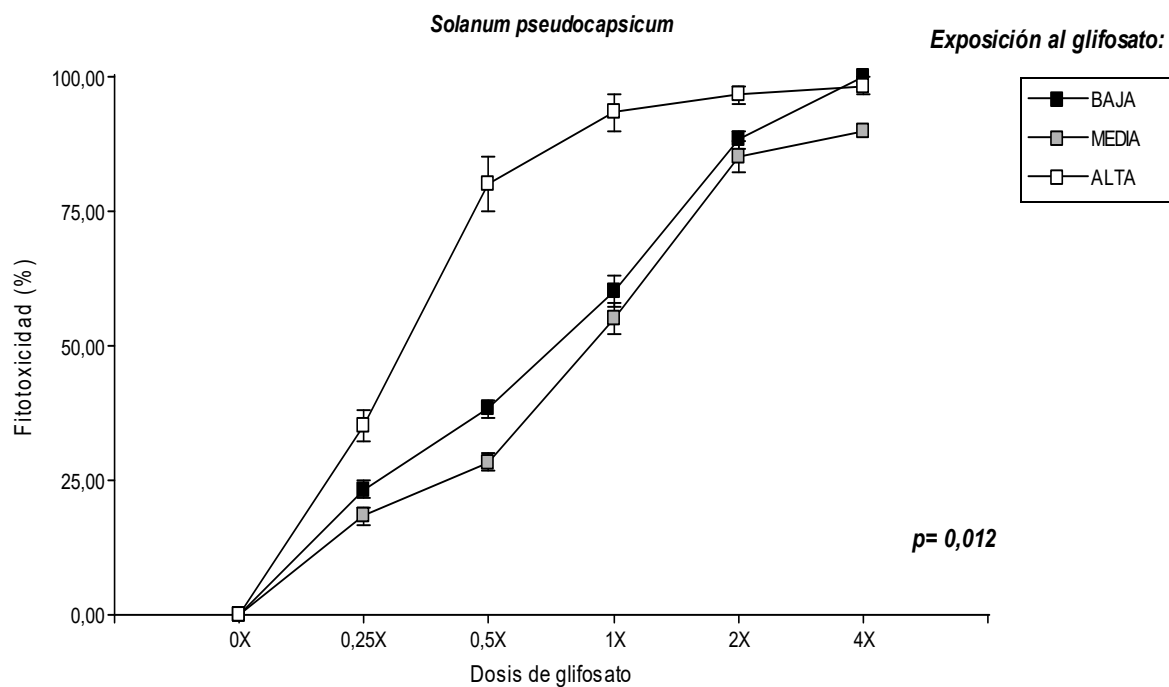
14. *Setaria parviflora*



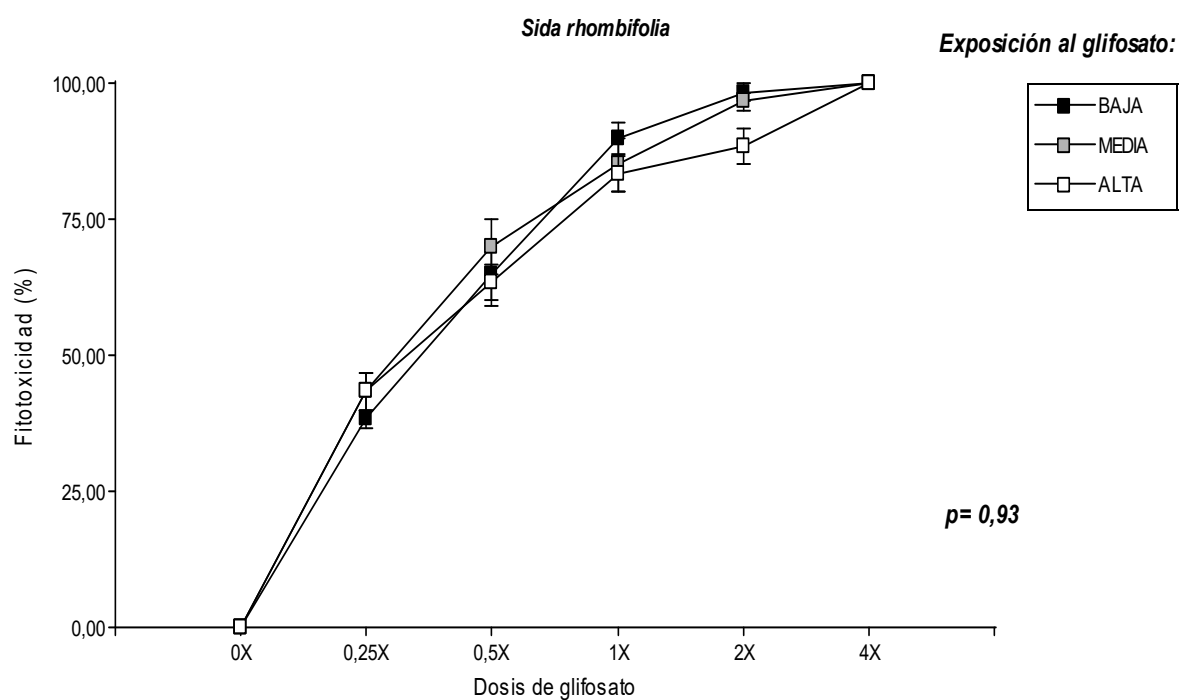
15. *Abutilon pauciflorum*



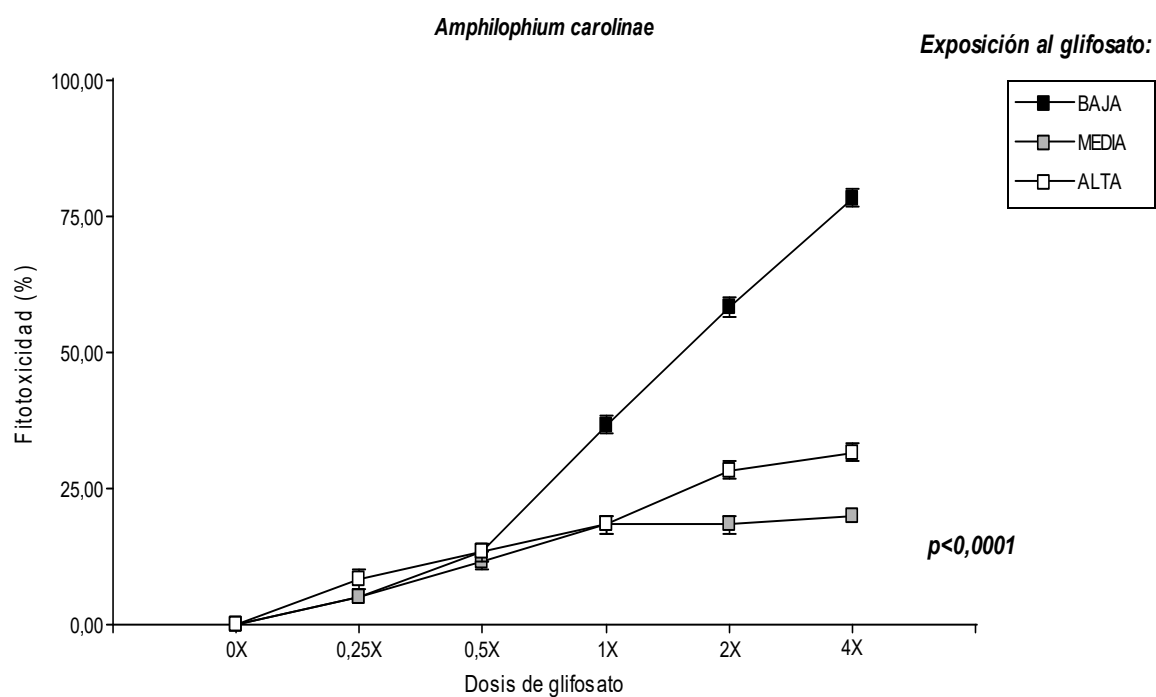
16. *Solanum pseudocapsicum*



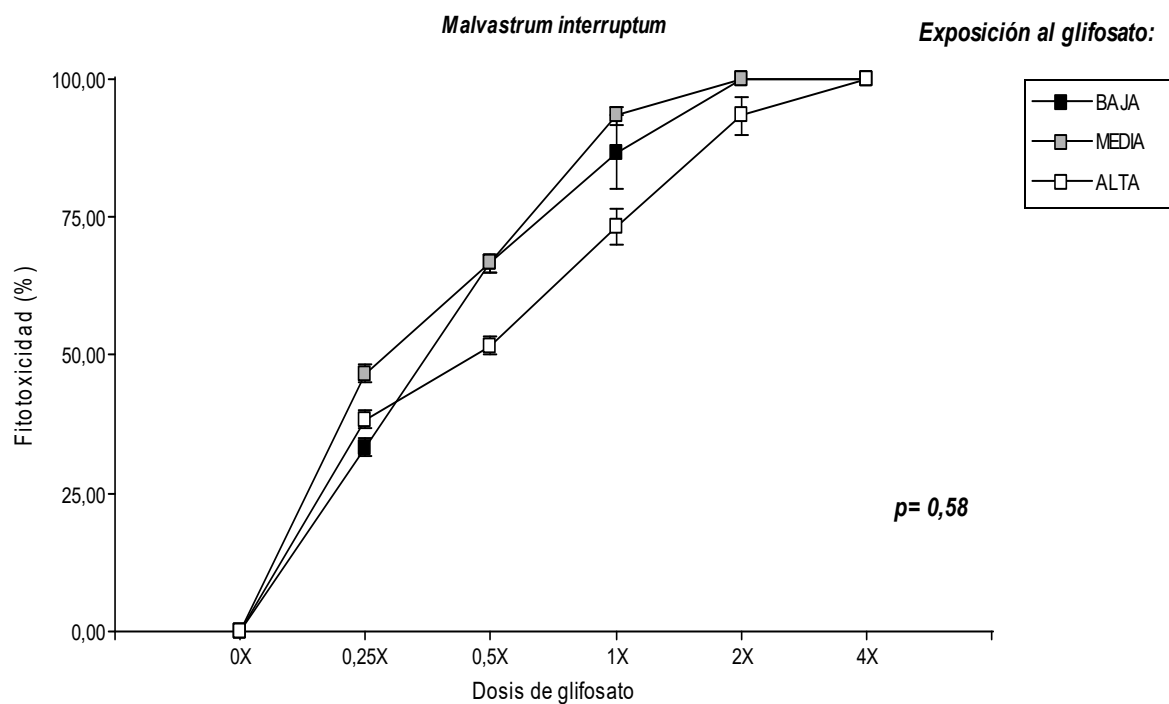
17. *Sida rhombifolia*



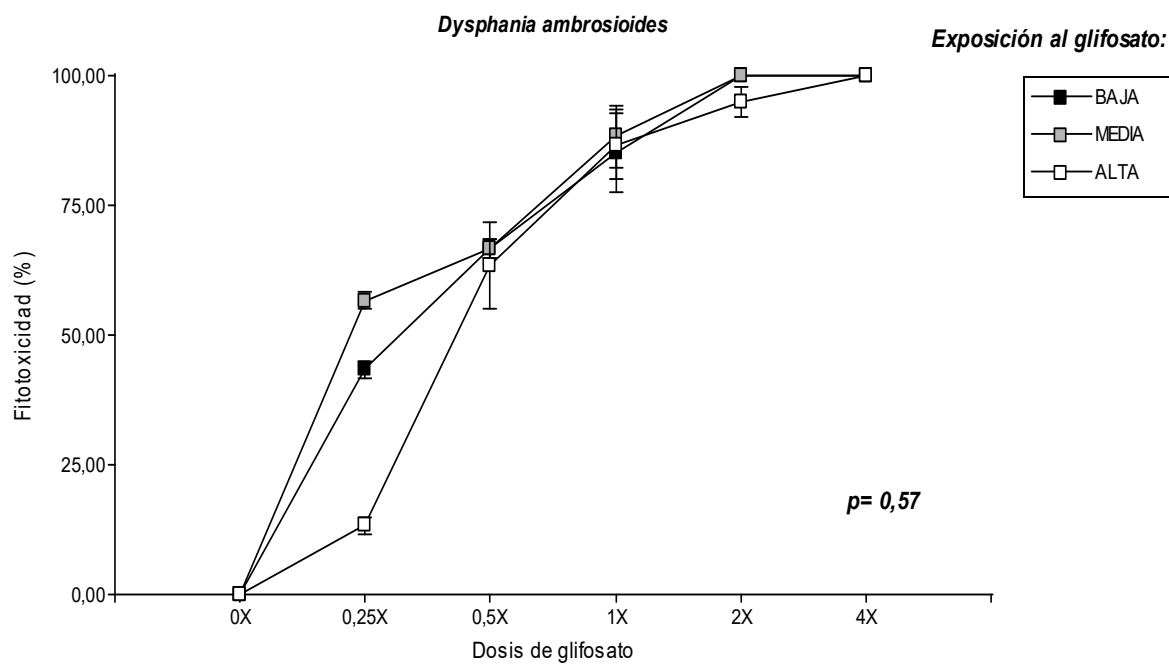
18. *Amphilophium carolinae*



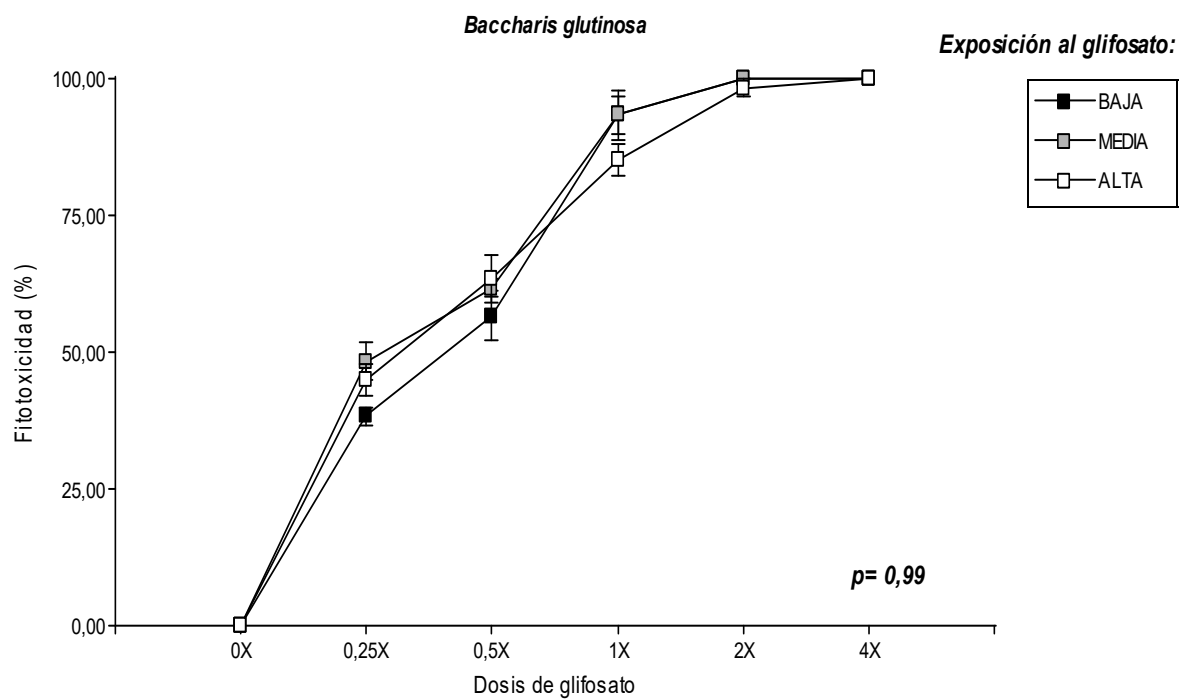
19. *Malvastrum interruptum*



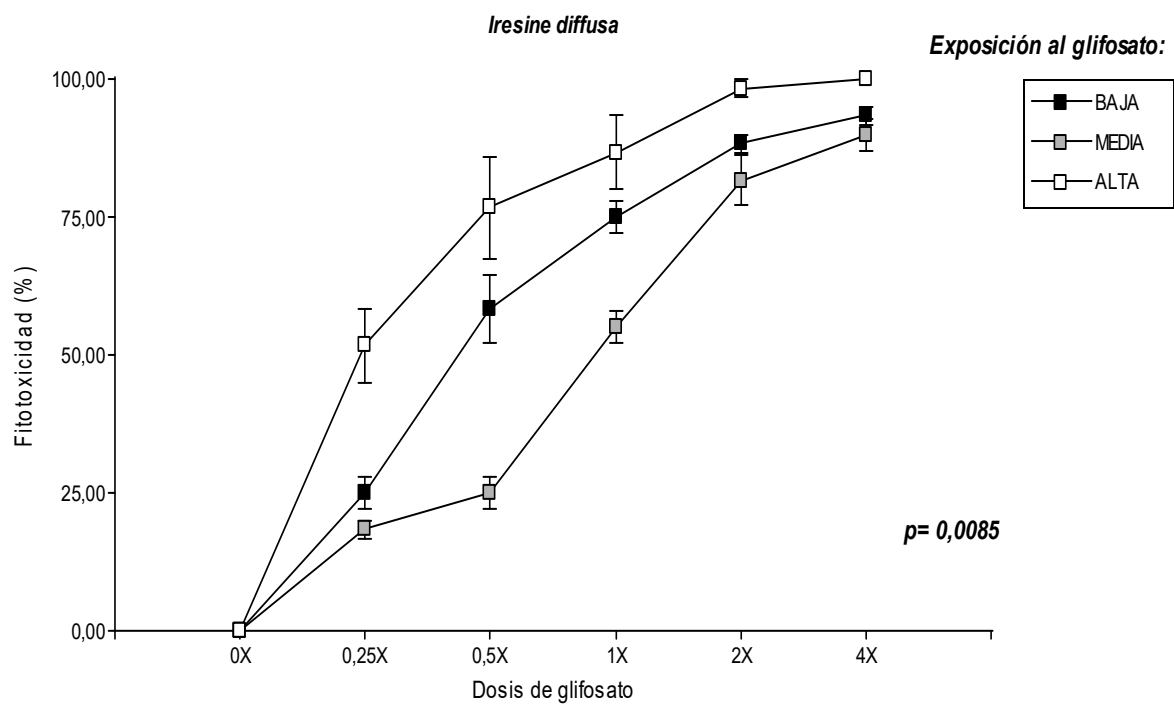
20. *Dysphania ambrosioides*



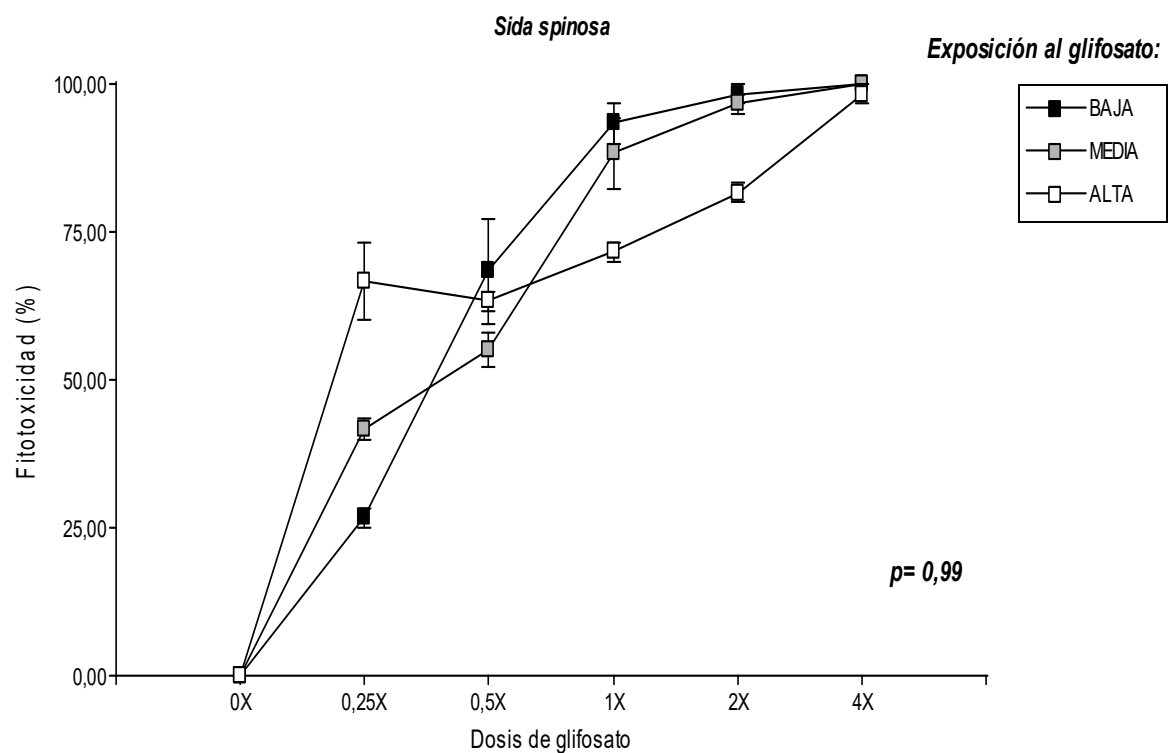
21. *Baccharis glutinosa*



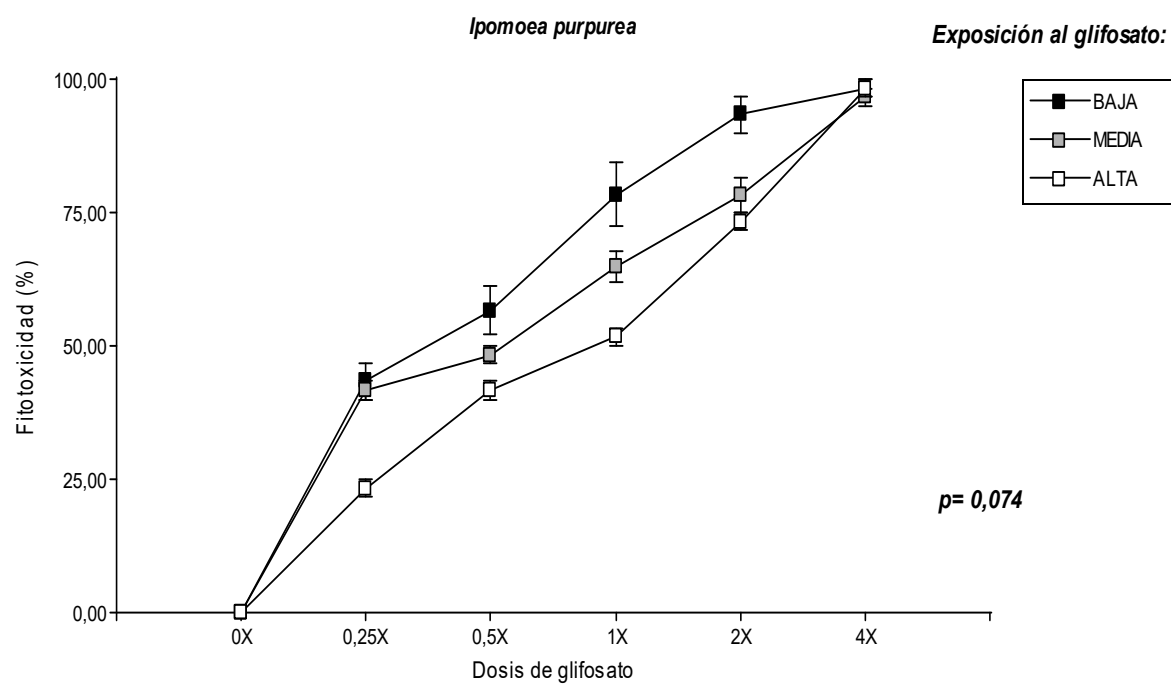
22. *Iresine diffusa*



23. *Sida spinosa*



24. *Ipomoea purpurea*



CAPÍTULO IV

DIVERSIDAD Y SUPERVIVENCIA DE PLANTAS VASCULARES NATIVAS EN FRAGMENTOS DE BOSQUE CHAQUEÑO: RELACIONES CON EL GRADO DE EXPOSICIÓN AL GLIFOSATO UTILIZADO EN LOS CULTIVOS

INTRODUCCIÓN

Entre los cambios en el uso de la tierra con más impacto en la biodiversidad se encuentra la fragmentación de los ambientes naturales (Foley et al., 2005; Sala et al., 2000), la cual refiere a la subdivisión y sustitución de éstos por agroecosistemas o urbanizaciones. La fragmentación del bosque usualmente ocurre con pérdida de bosque y el resultado final de este proceso es un paisaje con fragmentos de vegetación nativa rodeados por matrices de cultivo (Didham, 2010). Los patrones de fragmentación tienen importantes efectos en la calidad del hábitat y, al mismo tiempo, la intensificación de los patrones de uso de la tierra impone una fuerte estructuración espacial de las comunidades en los remanentes de ambientes naturales (Didham, 2010; Fahrig, 2013).

En distintos estudios, se ha observado que la diversidad de las comunidades y la composición de especies pueden verse fuertemente modificadas en los fragmentos de bosque (Hill y Curran, 2001; Jacquemyn et al., 2001; Laurance et al., 2006; Williams-Linera, 2002), siendo, en algunos casos, el área de los fragmentos el atributo de mayor influencia en las variables evaluadas (Benítez- Malvido, 1998; Echeverría et al., 2007). Además, se ha observado que muchas especies serían sensibles a las condiciones ambientales de los bordes de los fragmentos (Harper et al., 2005; Laurance, 2000; Murcia, 1995), pudiendo múltiples factores físicos y bióticos generados en la matriz ejercer su influencia en la composición, supervivencia y dinámica de las poblaciones presentes en los remanentes de bosque (Benítez-Malvido y Martínez-Ramos, 2003; Jules y Shahani, 2003; Laurance et al., 1998; Santos y Tellería, 2006).

La reducción de la superficie de los fragmentos puede aumentar la proporción de borde y exponer los interiores de los fragmentos a la influencia externa (Didham, 2010). El efecto borde puede causar alteraciones en la riqueza de especies, la abundancia de las poblaciones y la composición de especies (Murcia, 1995; Zheng y Chen, 2000), a través de tres efectos principales: (i) cambios en las condiciones abióticas, caracterizados por cambios micro-climáticos, (ii) efectos biológicos directos, como pérdida de especies o poblaciones de especies debido a los efectos micro-ambientales; y (iii) efectos biológicos indirectos, como la pérdida o dominancia de ciertas especies debido a alteraciones en las interacciones de especies cercanas al borde (Murcia, 1995).

Los procesos de fragmentación y pérdida de ambientes naturales pueden, además, provocar alteraciones en numerosos procesos ecológicos claves, como los que regulan la disponibilidad de recursos en el ambiente o los que determinan los patrones de interacción entre las distintas especies de la comunidad (Aguilar y Galetto, 2004; Didham et al., 2007; Ferreras et al., 2008; Grilli et al., 2012). De esta manera, los efectos de la fragmentación pueden determinar cambios bióticos y abióticos en los remanentes de vegetación, alterando los atributos de las comunidades naturales (Theoharides y Dukes, 2007; Yates et al., 2004). En particular, los cambios en la forma, tamaño y aislamiento de los remanentes de bosque, pueden promover cambios en la disponibilidad de recursos y en las condiciones abióticas presentes en los fragmentos de bosque (temperatura, humedad, condiciones de luz, etc.), afectando la dinámica de las especies de plantas nativas y no nativas de las comunidades naturales (Grilli et al., 2014; Honnay et al., 1999). Además, como consecuencia de la pérdida de bosques, puede producirse un deterioro generalizado de los suelos y la cobertura vegetal, lo cual dificulta o imposibilita la recolonización de las especies de plantas nativas en los terrenos disturbados, favoreciendo el ingreso y establecimiento de especies no nativas oportunistas o más eficientes en el uso de los recursos (Lockwood et al., 2007; Soria, 2016). Además de estas alteraciones, existe evidencia que sugiere que el proceso de fragmentación puede modificar significativamente la diversidad y composición de especies vegetales nativas, a partir de cambios en la configuración espacial y el tamaño de los remanentes de bosque (Arroyo-Rodríguez et al., 2008; Fahrig, 2003; Hanski, 2015; Honnay et al., 1998).

Sin embargo, no todas las especies de plantas muestran una respuesta uniforme a la fragmentación del bosque (Bastin y Thomas, 1999; Hill y Curran, 2001, 2005; Haila, 2002; Iida y Nakashizuka, 1995). Esta susceptibilidad diferencial puede depender de las características de la historia de vida de las plantas relacionadas, por ejemplo, con su

capacidad de dispersión, establecimiento o persistencia (Kolb y Diekmann, 2005). Se ha postulado que las especies anuales serían más sensibles a los efectos de borde (Laurance et al., 2002, Matthies et al., 2004), favoreciendo así la colonización por especies ruderales y exóticas (Bustamante y Simonetti, 2005).

A medida que el tamaño de los fragmentos se reduce, el aislamiento y el nivel de exposición de las plantas a los agroquímicos crece; por lo cual, numerosas especies se hacen más vulnerables a las invasiones, las enfermedades, la deriva de agroquímicos utilizados en la matriz agrícola, etc. y, pasados ciertos umbrales, la extinción se hace inevitable (Fahrig, 2001; Gurrutxaga y Lozano, 2008; Múgica de la Guerra et al., 2002). Numerosas especies de plantas han demostrado ser sensibles a los herbicidas a las dosis típicamente encontradas en spray de deriva, en términos de mortalidad, producción de biomasa y producción de semillas (Garthwaite et al., 2003). Las diferencias en la respuesta entre las especies a la deriva de herbicidas (en dosis subletales), se ha probado que pueden conducir a una reducción de la diversidad de plantas, y a cambios en la composición de la comunidad vegetal (Gove et al., 2007; Marrs et al., 1991b; Marrs y Frost, 1997; Pitcairn et al., 1998, 2003; Pywell et al., 1996) a través de cambios en las tasas de crecimiento y la competencia por los recursos, o a través de los impactos diferenciales sobre la fecundidad y el conjunto de semillas (Gove et al., 2007).

De esta manera, los efectos de los herbicidas parecen constituir otro factor estresante que afecta a las interacciones entre plantas, sumado a otros factores, como las modificaciones del uso de la tierra en la escala del paisaje (Kremmen et al., 2007) que están afectando cada vez más a los agroecosistemas (Boutin et al., 2014).

Si bien la mayoría de los estudios han sido realizados considerando la fragmentación de hábitat *per se*, es importante también considerar que la respuesta de las especies a la fragmentación puede variar dependiendo del nivel de deforestación en su entorno (e.g., Hill y Curran, 2005). Por lo tanto, la consideración del nivel de pérdida de bosque y el incremento de la superficie cultivada en los estudios en sistemas altamente fragmentados adquiere gran relevancia puesto que el valor de conservación de los fragmentos de bosque puede depender también de la proporción total de cobertura forestal en el paisaje en el que se sitúan (Arroyo-Rodríguez et al., 2008).

Los cambios en el uso de la tierra han tenido una importante influencia sobre la estructura y funcionalidad de los ecosistemas alrededor del mundo (DeFries et al., 2004;

Foley et al., 2005; Morello y Rodríguez, 2009). Se conoce que diversos usos de la tierra asociados a actividades productivas, como la explotación agrícola, modifican fuertemente la composición y estructura de la vegetación en las comunidades naturales (Hoshino et al., 2009; Waldner, 2008). La expansión de la agricultura desde la Segunda Guerra Mundial hasta la actualidad ha sido mayor que durante todo el siglo XVIII y la primera mitad del XIX. Tal crecimiento ha ocasionado la pérdida neta de alrededor de 11 millones de km² de bosques en los últimos 300 años (FAO, 2004). Actualmente, la superficie cultivada se está expandiendo en, aproximadamente, el 70 % de los países del mundo, está disminuyendo en el 25 % y se mantiene estable en un 5 % de los mismos (FAO, 2004).

En concordancia con las tendencias de alcance global, los principales factores de cambio en el uso y cobertura del suelo en América del Sur son la deforestación y la expansión de la agricultura. Algunos estudios dan cuenta de 4.277.000 km² de bosques convertidos total o parcialmente para la agricultura en el continente. Este proceso de cambio en el uso de la tierra, lejos de detenerse, ha continuado ininterrumpidamente hasta el presente, tal es el caso de las tierras bajas de Bolivia, por ejemplo, donde se observan tendencias similares con una aceleración en la tasa de pérdida de bosques. Los mapas recientes de la vegetación del continente indican un proceso similar de expansión de la agricultura en el Chaco del Sur de Bolivia y Norte y Centro de Argentina (Cabido y Zak, 2010). En particular, los Bosques Chaqueños del centro de Argentina han sufrido, en las últimas décadas, un acelerado proceso de fragmentación y pérdida de bosques, como consecuencia de la expansión de la frontera agropecuaria, la tala y los incendios forestales (Torrella y Adámoli, 2006; Zak y Cabido, 2005; Zak et al., 2004). Este ecosistema está actualmente reducido a fragmentos de distinto tamaño como consecuencia de perturbaciones ocurridas desde el siglo pasado (Cabido et al., 1991) y con mayor intensidad durante los últimos 30 años (Piquer-Rodríguez et al., 2015; Zak et al., 2008). Además, en la matriz circundante, la sustitución de los bosques por cultivos transgénicos, ha generado una creciente utilización de agroquímicos (Satorre, 2005), por lo que, frecuentemente, las especies presentes en los remanentes de bosque se ven expuestas a estas sustancias potencialmente tóxicas.

La Provincia de Córdoba constituye un dramático ejemplo de esta realidad, ya que los procesos de expansión de la agricultura en los departamentos del norte cordobés, entre 1970 y 2000, ocasionaron la pérdida de más de 10000 km² de bosques xerófilos estacionales (chaqueños) por conversión a cultivos anuales, principalmente soja (Barchuk et al., 2010; Cabido y Zak, 2010; Cáceres, 2015).

Aunque en los últimos años se han realizado numerosos estudios sobre procesos relacionados con la reproducción de especies vegetales en ambientes fragmentados del Bosque Chaqueño de Córdoba (por ej., Aguilar y Galetto, 2004; Aguilar et al., 2006; Aizen et al., 2002; Ashworth et al., 2004; Ferreras et al., 2008; Galetto et al., 2007; Grilli y Galetto, 2009; Grilli et al., 2013, 2014; Morales y Galetto, 2003; Pereyra et al., 2015; Tálamo et al., 2012), aún poco se conoce acerca de cómo las modificaciones ambientales producidas por la fragmentación del bosque y las prácticas agrícolas en la matriz de cultivos influyen sobre la biodiversidad de los remanentes de bosque, y particularmente, sobre la diversidad, composición y supervivencia de las plantas nativas.

En relación a estos antecedentes, el objetivo principal propuesto en el presente capítulo es describir y cuantificar la diversidad, composición y supervivencia de las plantas vasculares nativas presentes en fragmentos de Bosque Chaqueño de distintos tamaños y cantidad de superficie cultivada en el paisaje circundante.

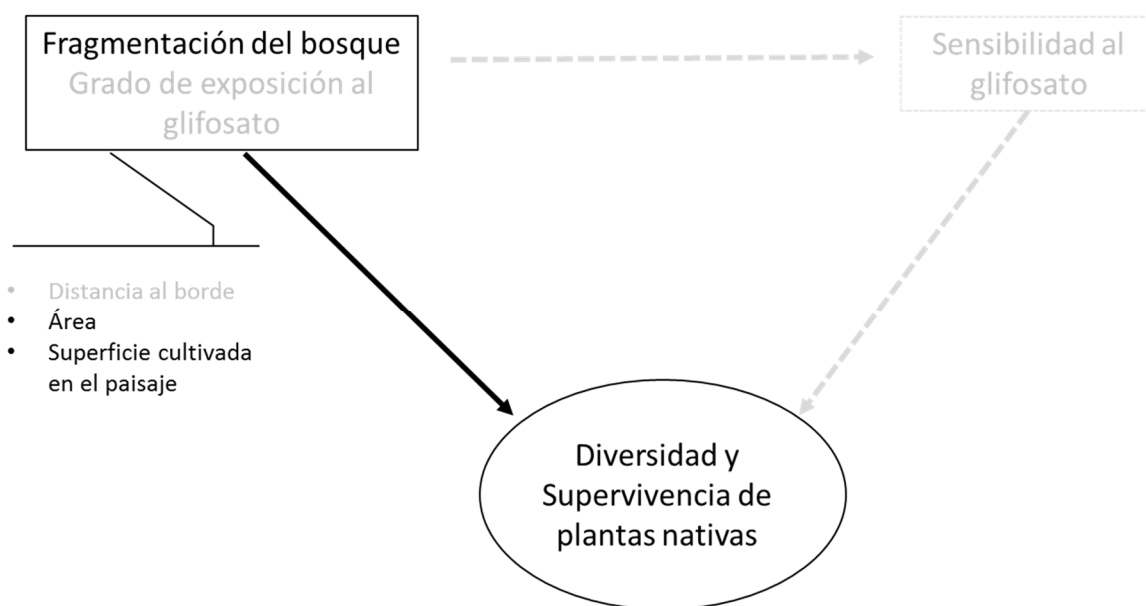


Figura 1. Modelo conceptual que describe las relaciones esperadas entre la diversidad y la supervivencia de las plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados y el grado de fragmentación del bosque nativo. Se resalta el factor y las variables que serán abordadas en el Capítulo IV para evaluar las relaciones mencionadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño de muestreos y variables analizadas

Durante los periodos de noviembre-diciembre y marzo-abril de los años 2010 y 2011, se llevaron a cabo dos muestreos de vegetación en cada uno de los 20 fragmentos de Bosque Chaqueño estudiados. Se delimitaron 10 transectas de faja de 2 x 10m. Las transectas se distribuyeron al azar, 5 en el interior y 5 en los márgenes de cada fragmento de bosque, a fin de considerar la posible heterogeneidad ambiental presente en cada sitio de estudio. Se consideró como “margen” del fragmento, al área circundante compuesta por 10m desde el borde del mismo hacia el interior, y se consideró como “interior” del fragmento el área restante incluida dentro del margen.

Los muestreos se realizaron en estos periodos, ya que coinciden con los picos de floración de la mayoría de las especies vasculares presentes en el Bosque Chaqueño. Para ello, se registraron todas las especies de plantas vasculares (nativas y no nativas), en todos los estadios de crecimiento (i.e., adultos, jóvenes y plántulas) presentes en cada una de las 10 transectas de 2 x 10m. Se realizaron ejemplares de herbario y se tomaron fotografías de las especies registradas a fin de facilitar su posterior identificación. La presencia de estructuras reproductivas en los ejemplares permitió su identificación *in situ* o *a posteriori* en el laboratorio. De esta manera, se pretendió registrar e identificar la mayor diversidad posible de especies vasculares presentes en las comunidades estudiadas.

Con el fin de conocer el estatus para la región de estudio de las distintas especies de plantas vasculares registradas, se llevó a cabo una revisión bibliográfica, tomando como referencia la base de datos de la Flora del Cono Sur (disponible online en: <http://www2.darwin.edu.ar/>). Además, se realizó una búsqueda detallada, en otras fuentes bibliográficas, a fin de determinar el estatus de aquellas especies que figuraban en dicha base de datos como nativas para Sudamérica pero cuya distribución no incluía información para la Provincia de Córdoba. Con este fin, se consultó la información publicada en la Flora de Argentina (Zuloaga et al., 2012), la Flora Ilustrada de Entre Ríos (Burkart, 1974; Burkart y Bacigalupo, 2005) y la Flora de la Provincia de Buenos Aires (Cabrera, 1970). A este grupo de especies (descriptas como nativas de Sudamérica, pero cuya distribución no incluía la Provincia de Córdoba), se las categorizó como especies no nativas en los sitios de estudio de la presente Tesis Doctoral. Además de la información del estatus de cada especie, se obtuvieron datos sobre el hábito, la forma de vida y la familia botánica a la que pertenecen

(base de datos del Missouri Botanical Garden (disponible online en: <http://www.tropicos.org/>). Esta información se encuentra resumida en la Tabla del Apéndice I.

Además de los datos mencionados anteriormente, durante los dos períodos comprendidos entre los meses de noviembre-diciembre y marzo-abril de los años 2012 y 2013, En cada transecta, se marcaron con etiquetas y se registraron los datos de todos los individuos de especies de plantas vasculares nativas presentes en las mismas. Posteriormente, durante la segunda y tercera temporada de muestreo (2013-2014 y 2014-2015) se volvieron a registrar los datos de las especies nativas marcadas durante la primera temporada y se calculó el porcentaje de supervivencia de las plantas nativas encontradas.

A partir de los datos obtenidos en los muestreos de vegetación, se calcularon para los sitios de estudio las siguientes variables:

1.1 *Densidad de especies*

Corresponde al número total de especies de plantas vasculares registradas en el área comprendida por la sumatoria de las 10 transectas analizadas en cada fragmento. Vale la pena aclarar que en esta Tesis no se pretendió estimar la riqueza de especies presente en los sitios, sino representar, gráfica y cuantitativamente la diversidad de especies vegetales, presentes en una unidad comparativa de evaluación en los diferentes sitios. Es decir, un área comparativa de 200m² correspondiente al área total representada por el conjunto de las 10 transectas de 2x10m, que fueron analizadas en cada fragmento de bosque. Se tomó la decisión de trabajar con la variable densidad de especies, debido a que representa una medida de la riqueza específica de una comunidad que permite comparar áreas similares en las cuales se evalúan los efectos de los distintos factores. Por este motivo, esta variable ha sido ampliamente utilizada en numerosos trabajos, en particular, sobre conservación de la biodiversidad (Arroyo-Rodríguez et al., 2008; Dirkse y Martakis, 1998; Simpson, 1964). Se calculó también la densidad ajustada de especies vasculares la cual se obtuvo restando, de la densidad total de especies registradas, a aquéllas que presentaron una abundancia de tan solo un individuo. Se procedió a calcular esta variable, ya que el registro de aquellas especies que fueron encontradas tan solo una vez, puede ser producto de un error de muestreo o identificación y, en ocasiones, estas pueden interferir con una correcta interpretación de los valores de densidad registrados (Feinsinger, 2001). Por último, considerando que la densidad total del conjunto especies registradas, depende de la densidad de individuos presentes y que, por lo general, a mayor abundancia aumenta la densidad de especies

(Gotelli y Colwell 2014; Moreno, 2001), se elaboraron curvas de rarefacción para cada sitio de estudio. Dichas curvas se elaboraron a partir de los datos de densidad de individuos y densidad de las especies vegetales censadas en los 20 fragmentos de Bosque estudiados. Este procedimiento permitió hacer comparaciones del número de especies encontradas en diferentes sitios a partir de una sub-muestra de un tamaño estándar ($n < N$) correspondiente a la densidad total del sitio donde se registró el menor número de individuos (Gotelli y Colwell, 2014).

Al comparar las curvas se observó que se aproximaron a una asíntota (Figura 4.1). De esta manera, fue posible comparar la densidad de especies de los sitios de estudio a un mismo nivel de densidad (para una sub-muestra de 2573 individuos) correspondiente al número total de individuos registrados en el sitio GB2, el cual presentó el valor más bajo de los sitios estudiados.

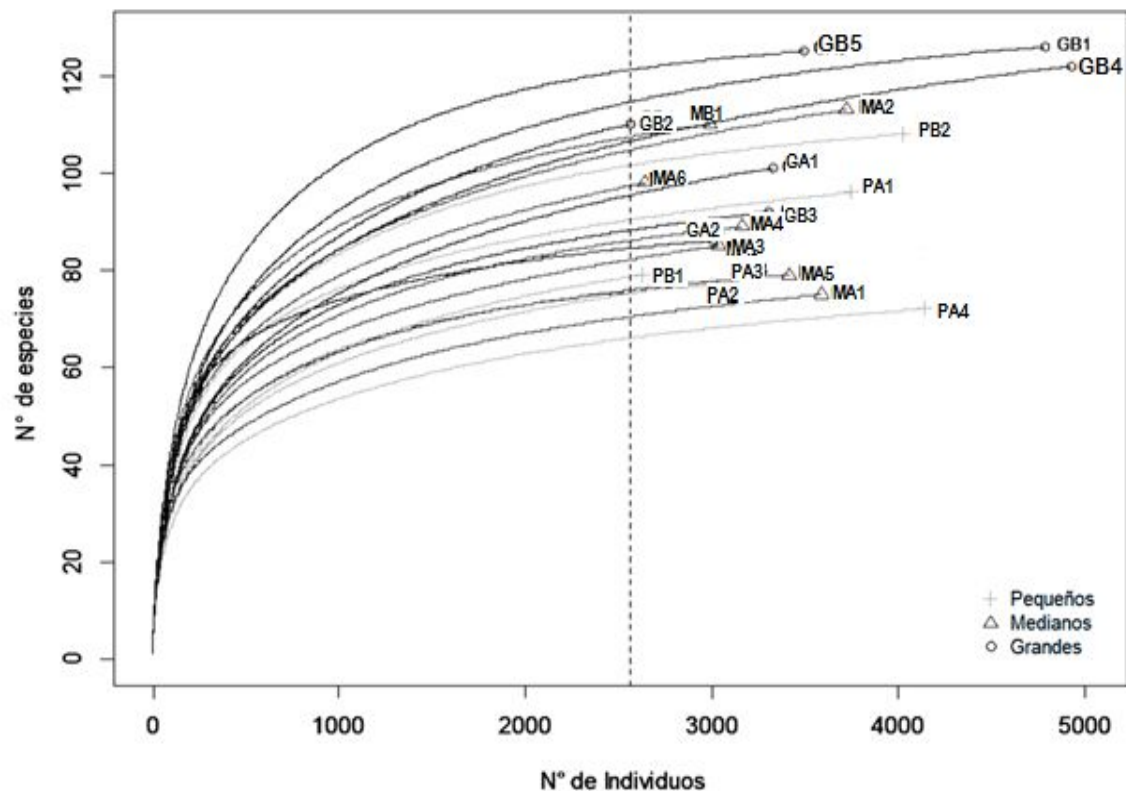


Figura 4.1: Curvas de rarefacción de los 20 sitios de estudio. Los símbolos indican la categoría de tamaño de los fragmentos; pequeños (+); medianos (Δ) y grandes (\circ). La línea punteada señala la sub-muestra de 2573 individuos, correspondiente al fragmento GB2, el cual presentó el menor número de individuos muestreados.

1.2 *Densidad de individuos por especie*

Corresponde al número total de individuos perteneciente a cada especie presente en los muestreos. En el caso de aquellas especies cuya densidad fue mayor a 10 individuos dentro de la transecta, se llevó a cabo una estimación visual y se indicó un valor aproximado según rangos (>10 , >50 o >100 individuos). En los análisis estadísticos, estos rangos fueron reemplazados por valores fijos de 25, 75 y 150 individuos, respectivamente. En el caso de las especies herbáceas cespitosas que cubrían una gran extensión dentro de las transectas, y para las cuales se tornaba dificultoso estimar el número de individuos, se llevó a cabo un conteo del número de estructuras reproductivas por unidad de superficie (inflorescencias por metro cuadrado), y luego se calculó una densidad estimada en función del área cubierta.

Además de la densidad total de individuos, se calculó la densidad relativa de especies nativas, es decir, la proporción del número de individuos de especies nativas registrados, en relación al número total de individuos de todas las plantas vasculares registradas en cada sitio de estudio. Se calculó esta variable a fin de poder establecer comparaciones entre los valores de densidad de especies nativas registrados para los distintos sitios de estudio considerando la proporción de la densidad a total que estuvo representada por especies nativas. Con los datos de densidad obtenidos, se elaboraron curvas de rango-abundancia o curvas de Whittaker (Feinsinger, 2012; Magurran y McGill, 2011), ordenando en un gráfico de coordenadas, las especies registradas en cada sitio en el eje x (ordenadas en forma decreciente según el número de individuos registrados para cada especie). En el eje y, se representó el logaritmo en base 10 de la densidad relativa de individuos de cada especie ($p_i = n_i / N$; donde p_i es la densidad proporcional o relativa de la especie i , es decir, el número de individuos de dicha especie y N el número total de individuos registrados en la muestra). En el análisis de dominancia numérica, se consideraron como “especies dominantes” y “raras” a aquéllas que se ubicaron en el primer y cuarto cuartil, respectivamente, de la distribución de los valores de abundancia relativa observada en cada sitio de estudio (Gaston, 1994).

1.3 *Índices de diversidad*

A fin de cuantificar y comparar la diversidad vegetal de cada sitio de estudio, se calcularon los siguientes índices de diversidad: índice de Shannon-Wiener ($H' = - \sum p_i \ln p_i$); índice recíproco de Simpson ($D = 1 / \sum p_i^2$) e índice de equidad de Pielou ($J = H' / \ln S$). Donde p_i corresponde a la densidad relativa de cada especie y S corresponde al número total de especies registradas en la muestra. El índice H' ha sido ampliamente utilizado debido a que caracteriza de manera sencilla la diversidad específica de una comunidad (Magurran y

McGill, 2011) y adquiere valores entre cero y el logaritmo de S . En el caso particular en que exista una sola especie en la comunidad este índice será igual a 0 y por el contrario tomará un valor igual a $\log S$ cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos. El índice D es ampliamente utilizado debido a su ventaja de presentar una gran sensibilidad a la detección de cambios en las especies más abundantes (Magurran y McGill, 2011). Este índice toma un valor mínimo de 1 en aquellos casos donde la comunidad sólo contiene una especie. Cuanto más alto es el valor de este índice, mayor será la diversidad de la comunidad estudiada. El índice J se calculó como una medida comparativa de la equidad de las comunidades, debido a que expresa cuán similares son las comunidades en relación al número de especies que presenta cada una. Este índice toma valores entre 0 y 1, donde $J = 1$ corresponde a una situación particular donde todas las especies son igualmente abundantes dentro de la comunidad (Moreno, 2001). Para estimar y comparar la diversidad entre los sitios de estudio de una manera más conservadora, se calcularon, además, los índices de diversidad descriptos líneas arriba pero sin incluir en el análisis a aquellas especies que presentaron una abundancia de tan solo un individuo, ya que su registro pudo deberse a un error de muestreo o identificación (Magurran y McGill, 2011).

1.4 Composición

Con el fin de describir y analizar la composición de plantas vasculares en cada uno de los sitios de estudio, se llevó a cabo un análisis de escalamiento multidimensional (NMDS por sus siglas en inglés: *non-metric multidimensional scaling*), el cual tiene como objetivo representar, en un espacio geométrico de pocas dimensiones, las proximidades existentes entre un conjunto de datos de diversidad de una comunidad. Con este análisis se pretendió analizar las diferencias en la composición de especies de plantas registradas en los sitios de estudio en función de los datos de densidad de especies y densidad de individuos registrados en cada sitio.

1.5 Similitudes y diferencias entre la diversidad de las plantas vasculares de los fragmentos de bosque estudiados

El grado de reemplazo de especies a través del gradiente de fragmentación estudiado (fragmentos pequeños, medianos y grandes) fue evaluado en base a índices de similitud (coeficientes de similitud de Sorensen para datos cuali- y cuantitativos) y el índice de reemplazo de especies de Whittaker (Magurran, 1988). El grado de disimilitud en la composición de especies entre fragmentos de bosque será analizado mediante índices de

complementariedad (Moreno, 2001). Los índices de similitud expresan el grado en el que dos comunidades son semejantes por las especies presentes en ellas, por lo que son una medida inversa de la diversidad beta, que se refiere al cambio de especies entre dos comunidades (Baev y Penev, 1995; Magurran, 1988; Pielou, 1975). Estos índices pueden obtenerse con base en datos cualitativos o cuantitativos directamente o a través de métodos de ordenación o clasificación de las comunidades (Baev y Penev, 1995). El coeficiente de similitud de Sorensen para datos cualitativos ($IS = 2c/a+b$), donde a = número de especies presentes en el sitio A; b = número de especies presentes en el sitio B; c = número de especies presentes en ambos sitios A y B, relaciona el número de especies en común con la media aritmética de las especies en ambos sitios (Magurran, 1988). El resultado es expresado en porcentaje de semejanza entre ambas comunidades consideradas (Moreno, 2001). Se calculó también, el coeficiente de similitud de Sorensen para datos cuantitativos ($IS_{cuant} = 2pN/aN + bN$), donde aN = número total de individuos en el sitio A; bN = número total de individuos en el sitio B; pN = sumatoria de la densidad mas baja de cada una de las especies compartidas entre ambos sitios (Magurran, 1988).

El índice de reemplazo de especies de Whittaker ($Beta = S/alfa-1$) proporciona un valor de diversidad beta y se basa en datos cualitativos (presencia-ausencia de las especies), donde S = Número de especies registradas en un conjunto de comunidades (diversidad gamma); $alfa$ = Número promedio de especies en las comunidades (alfa promedio) (Moreno, 2001).

El concepto de complementariedad se refiere al grado de disimilitud en la composición de especies entre pares de comunidades (Colwell y Coddington, 1994). Para obtener el valor de complementariedad se calcularon primero dos medidas: **i.)** La densidad total para ambos sitios combinados: $SAB = a + b - c$, donde a es el número de especies del sitio A, b es el número de especies del sitio B, y c es el número de especies en común entre los sitios A y B; y **ii.)** El número de especies únicas a cualquiera de los dos sitios: $UAB = a + b - 2c$. A partir de estos valores calculamos la complementariedad de los sitios A y B como: $C(AB) = U(AB) / S(AB)$. Así, la complementariedad varía desde cero, cuando ambos sitios son idénticos en composición de especies, hasta uno, cuando las especies de ambos sitios son completamente distintas (Colwell y Coddington, 1994).

1.6 Supervivencia

A partir de los datos de densidad de individuos de especies nativas marcados en la primera temporada de muestreo, y cuya presencia y persistencia se monitoreó durante tres años consecutivos, se calculó el porcentaje de supervivencia para cada especie. Para el caso

de las especies perennes, este valor se obtuvo como el cociente entre el número de individuos que permanecieron con vida hasta la tercera temporada de muestreo, dividido el total de individuos registrados para el primer año de muestreo ($\% \text{ Sup.} = D_{3^{\circ}\text{año}} / D_{1^{\circ}\text{año}} \times 100$). Para el caso de las especies anuales y bianuales, se registraron (entre diciembre de 2012 y enero de 2013) los individuos presentes en las transectas mencionadas anteriormente; esos ejemplares fueron marcados en esta primera oportunidad y luego (durante los meses de marzo y abril de 2013) se registraron los individuos vivos al final de la temporada reproductiva. A partir de estos datos, se calcularon los porcentajes de supervivencia de este conjunto de especies.

2. Análisis de datos

Luego de corroborar la normalidad de las variables analizadas, utilizando la prueba estadística de Shapiro-Wilks, según la naturaleza de las variables se llevaron a cabo análisis de regresión lineal y ANOVA. Los análisis estadísticos descriptos fueron llevados a cabo mediante el software Infostat V. 2016. El análisis NMDS, al igual que la confección de las curvas de rarefacción, fueron llevadas a cabo mediante el uso del software estadístico R v.2.15.0 (R Core Development Team 2015).

RESULTADOS

1. Características de la diversidad de plantas vasculares

1.1 Densidad de especies

Se registró un total de 304 especies de plantas vasculares en los 20 sitios de estudio, 30 de las cuales fueron especies no nativas (10%), (Apéndice I) La densidad de especies registrada en cada uno de los sitios de estudio se muestra en la Tabla 4.1. Los fragmentos de mayor tamaño presentaron los valores más altos de densidad total y ajustada de especies vasculares. Los sitios que registraron los mayores valores de densidad total fueron GB5 y GB1. Por otro lado, el sitio PA4 fue el que presentó el valor más bajo de densidad total de especies.

								Índices ajustados		
Sitio	Densidad total de especies	Densidad ajustada de especies	Densidad total de individuos	Densidad de individuos de especies nativas	H	D	J	H'	D'	J'
Pequeños										
PA1	96	79	3752	3446	3,28	10,63	0,57	3,25	10,50	0,74
PA2	78	67	3014	2969	3,24	14,8	0,57	3,22	14,62	0,77
PA3	78	64	3111	3032	3,15	12,5	0,55	3,12	12,34	0,75
PA4	73	60	4150	3224	2,97	9,84	0,52	2,95	9,75	0,72
PB1	79	63	2635	2335	3,33	19,19	0,58	3,29	18,79	0,79
PB2	108	91	4030	3713	3,51	13,77	0,61	3,48	13,56	0,77
X ± DE	85,33 ± 13,62	70,67 ± 11,94	3.449 ± 614	3119 ± 472	3,25 ± 0,18	13,46 ± 3,37	0,57 ± 0,03	3,22 ± 0,18	13,26 ± 3,27	0,76
Medianos										
MA1	75	61	3596	3283	3,11	9,9	0,54	3,09	9,80	0,75
MA2	114	89	3733	3583	3,7	24,67	0,65	3,66	24,16	0,82
MA3	85	68	3043	2797	3,17	9,99	0,55	3,14	9,85	0,74
MA4	91	72	3173	2597	3,27	13,6	0,65	3,23	13,31	0,75
MA5	79	68	3423	3386	3,43	20,45	0,63	3,41	20,16	0,81
MA6	99	71	2650	2568	3,61	21,72	0,57	3,54	20,98	0,83
MB1	112	91	3001	2743	3,71	21,12	0,6	3,66	20,65	0,81
X ± DE	96,67 ± 14,29	76,50 ± 10,60	3.171 ± 373	2994 ± 413	3,48 ± 0,23	18,59 ± 5,58	0,61 ± 0,04	3,44 ± 0,22	18,19 ± 5,42	0,79
Grandes										
GA1	101	78	3333	2986	3,22	11,53	0,56	3,18	11,31	0,73
GA2	86	74	3009	2909	3,8	32,17	0,66	3,77	31,43	0,88
GB1	127	99	4800	4454	3,63	20,12	0,63	3,58	19,64	0,78
GB2	112	82	2573	2363	3,61	20,86	0,63	3,54	20,05	0,80

GB3	92	76	3315	3109	3,25	12,18	0,57	3,22	12,01	0,74
GB4	126	93	4943	4932	3,47	15,23	0,61	3,42	14,93	0,75
GB5	127	110	3501	3501	3,87	27,42	0,68	3,83	26,80	0,81
X ± DE	107,33 ±	85,50 ± 13,77	3.446 ± 803	3479 ± 904	3,54 ± 0,27	19,90 ± 8,48	0,62 ± 0,05	3,49 ± 0,27	19,42 ± 8,25	0,79

Tabla 4.1. Diversidad de plantas vasculares registradas en los sitios de estudio. Los datos indican la densidad de especies (total y ajustada), la densidad de individuos (total y ajustada), y la densidad de individuos de especies nativas en cada sitio de estudio. Se muestran los valores de los índices de Shannon (H), recíproco de Simpson (D) y de equidad de Pielou (J), calculados para el total de especies, y los valores ajustados de dichos índices (i.e., excluyendo a las especies que registraron una abundancia de un individuo).

Al evaluar las posibles relaciones entre la densidad total de especies de plantas vasculares registradas y el tamaño de los fragmentos de bosque, se evidenciaron relaciones significativas entre estas variables ($F(2, 17) = 4,296, p = 0,030$), (Figura 4.2). De la misma manera, este análisis arrojó una tendencia similar entre la densidad ajustada de especies de plantas vasculares y el tamaño del fragmentos, aunque la misma no fue estadísticamente significativa ($F(2, 17) = 3,420, p = 0,056$).

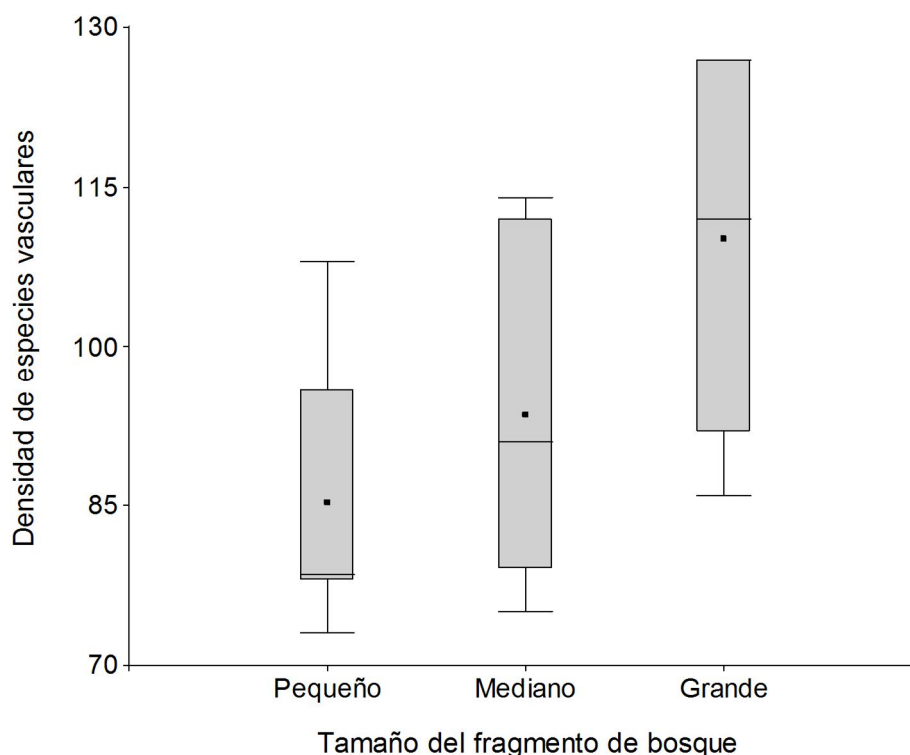


Figura 4.2. Densidad de especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque de diferentes tamaños (ver sección Materiales y Métodos). Se grafica la mediana, la media y los cuartiles 0,05; 0,25; 0,75 y 0,95.

Cuando evaluamos las relaciones entre la densidad total de especies de plantas vasculares registradas y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada relictos de bosque, se evidenciaron relaciones significativas entre estas variables ($F(1) = 5,22; p = 0,034$), (Figura 4.3). De la misma manera, este análisis arrojó una tendencia similar entre la densidad ajustada de especies de plantas vasculares y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada relictos de bosque, aunque la misma no fue estadísticamente significativa ($F(1) = 4,42; p = 0,054$).

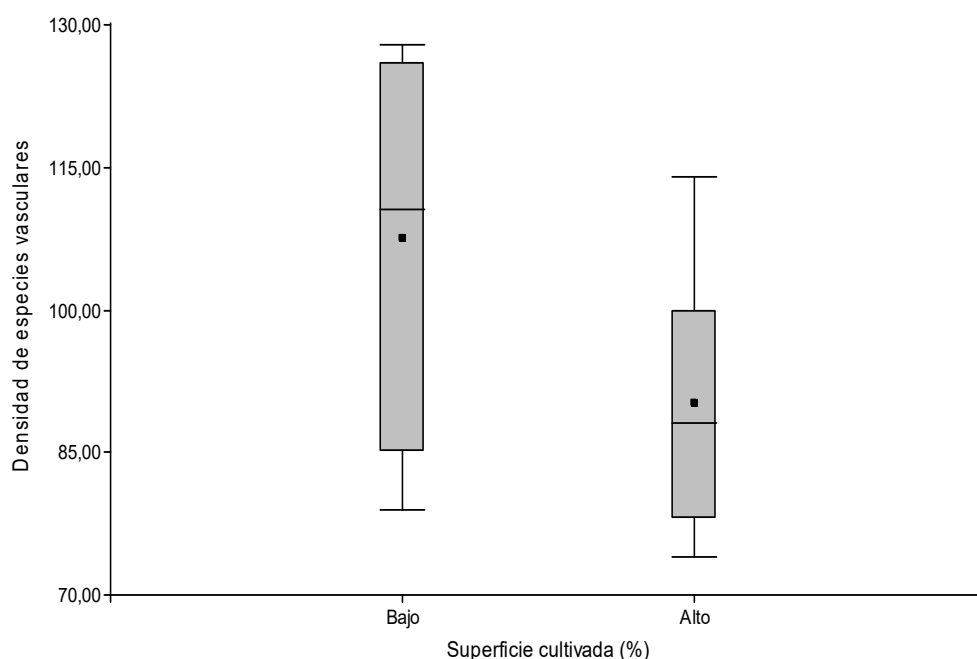
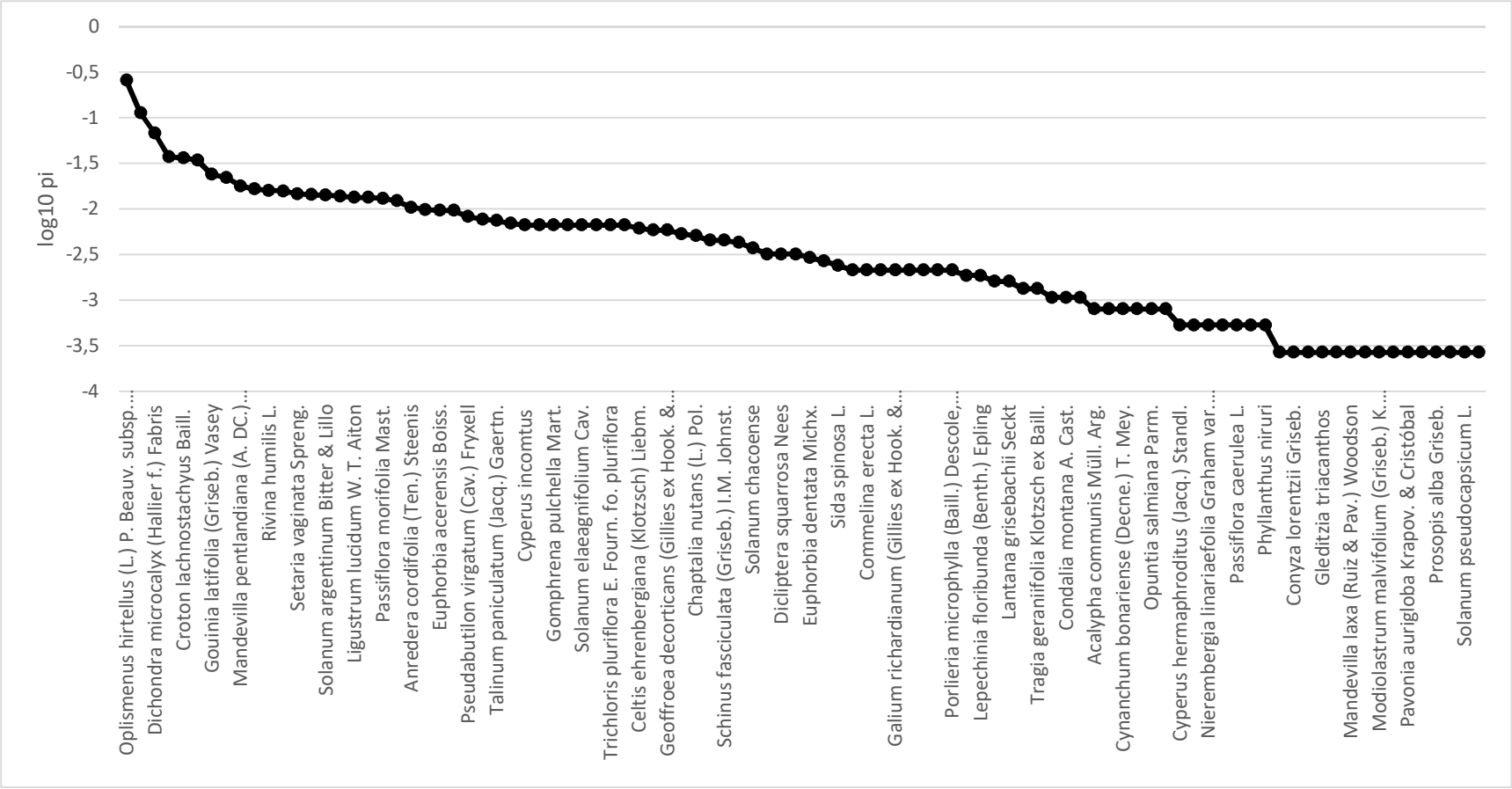


Figura 4.3. Densidad de especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque rodeados por diferentes porcentajes de superficie cultivada (ver sección Materiales y métodos). Se grafica la mediana, la media y los cuartiles 0,05; 0,25; 0,75 y 0,95.

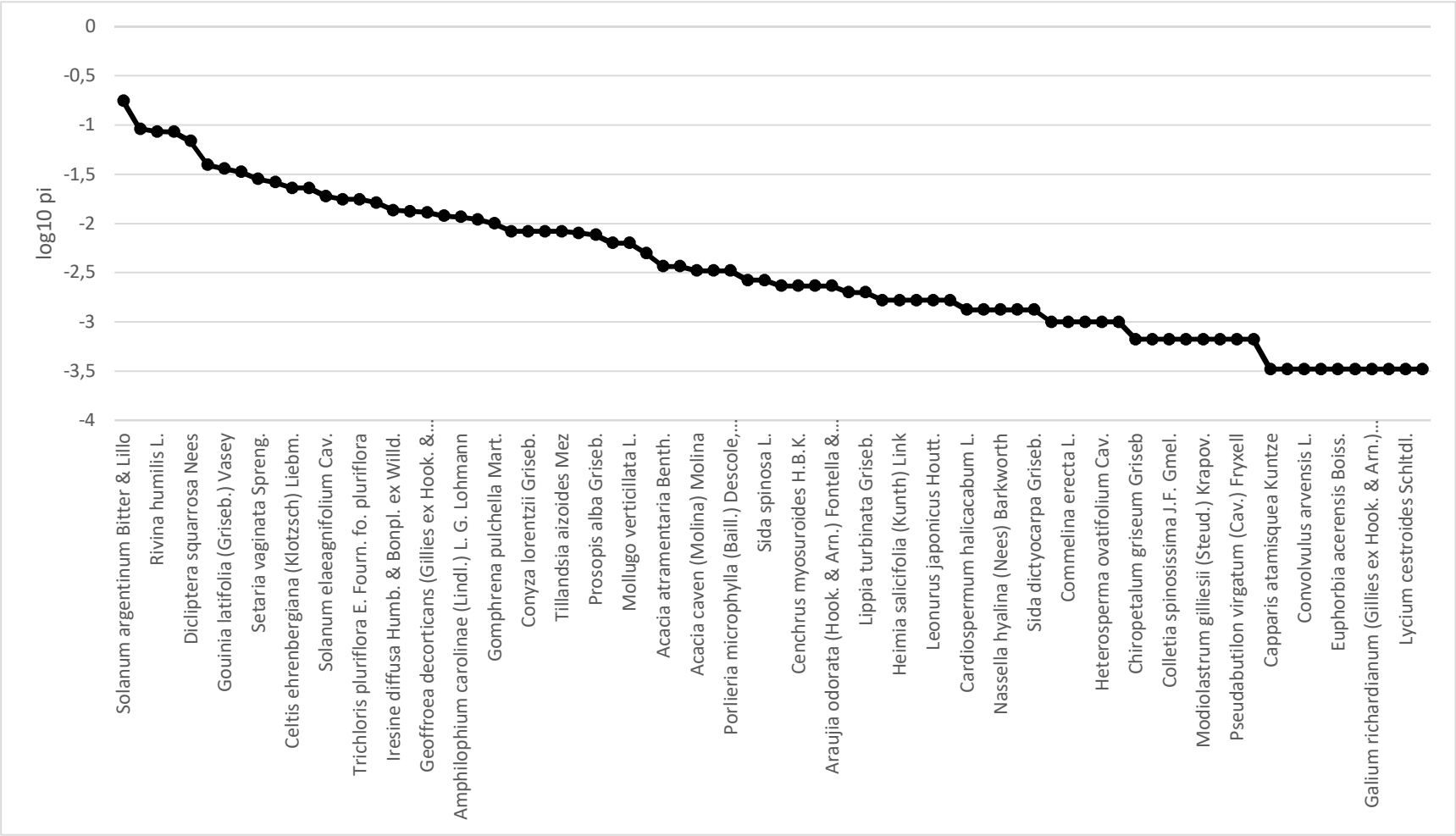
Al analizar las curvas de rango-abundancia de los diferentes sitios de estudio, se puede observar que todas ellas presentan una pendiente no muy pronunciada y similar entre los distintos sitios de estudio (Figura 4.4). Es decir, la equidad entre las especies (o su inverso, la dominancia numérica), sería similar en los 20 sitios de estudio. También, se puede apreciar que la mayoría de las especies registradas, presentaron una densidad relativa intermedia, habiendo tan solo unas pocas especies dominantes (entre 4 y 12, dependiendo del sitio). Se registraron 9 especies que estuvieron presentes en los 20 sitios de estudio (Apéndice I). Si bien se registraron algunas especies que fueron en general muy abundantes, encontrándose como dominantes en más del 50% de los sitios de estudio (por ejemplo, *Rivina humilis*, *Sida rhombifolia* y *Solanum argentinum*) en la mayoría de los casos las especies registradas fueron variables respecto de su densidad relativa y su nivel de dominancia dentro de las comunidades.

Figura 4.4. Curvas de rango-abundancia de las especies de plantas en los 20 sitios estudiados, ordenados según el tamaño de los fragmentos de Bosque Chaqueño (P= pequeños; M= medianos; G= grandes), y el porcentaje de superficie circundante cubierta por cultivos (A= alta; B= baja). Las curvas corresponden a los valores de densidades relativas de todas las especies de plantas vasculares registradas en los sitios de estudio.

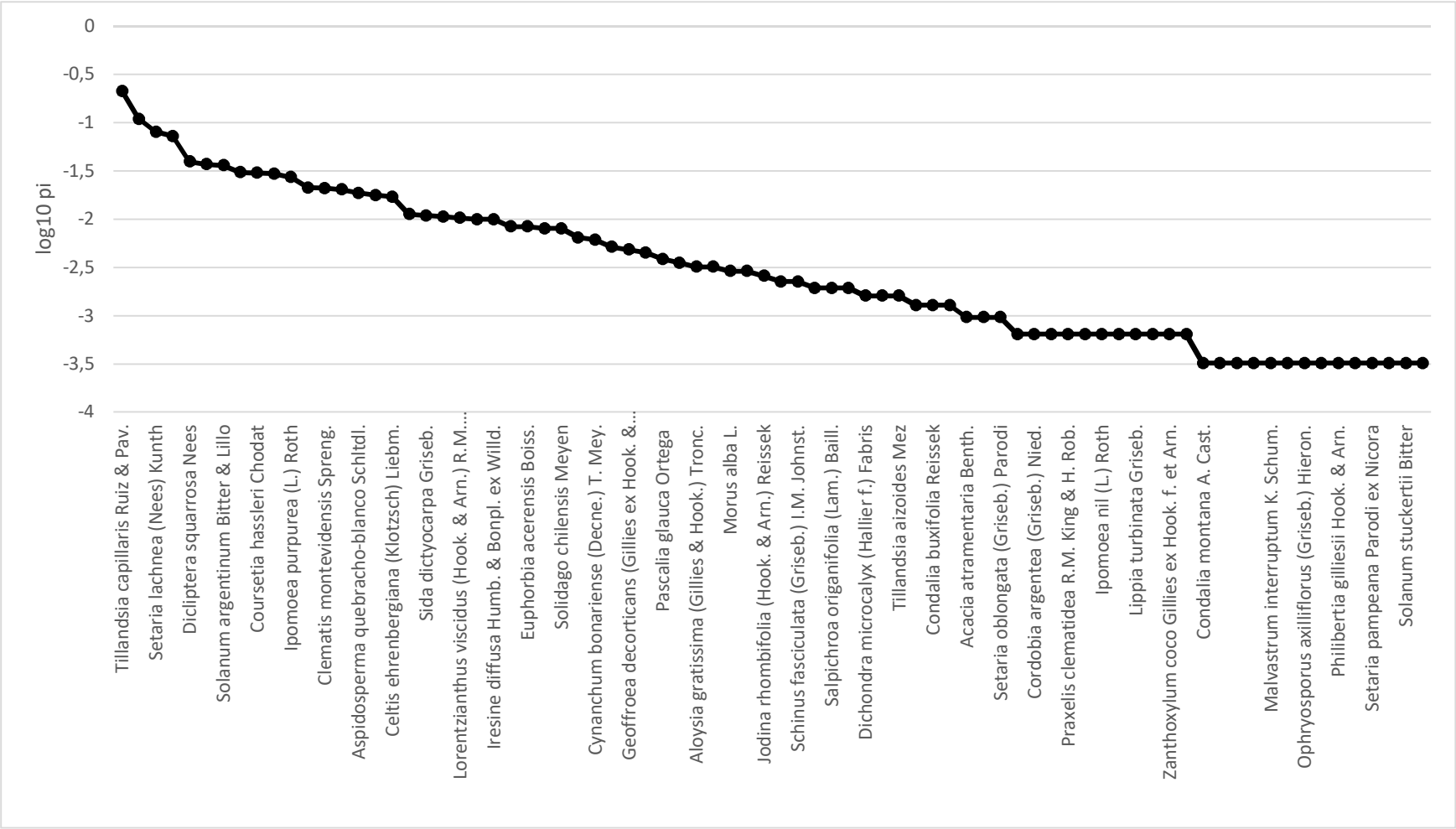
Sitio PA1



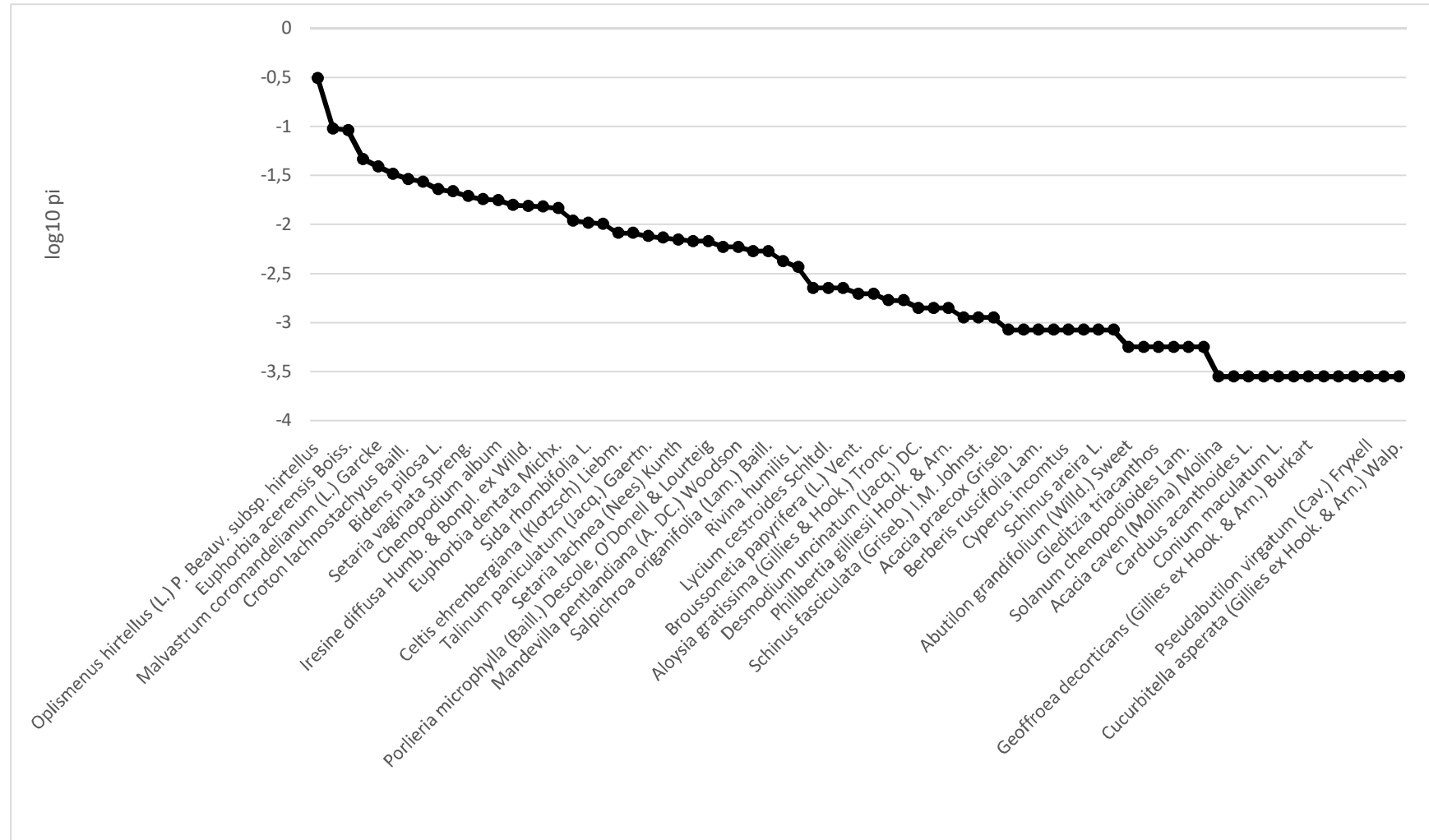
Sitio PA2



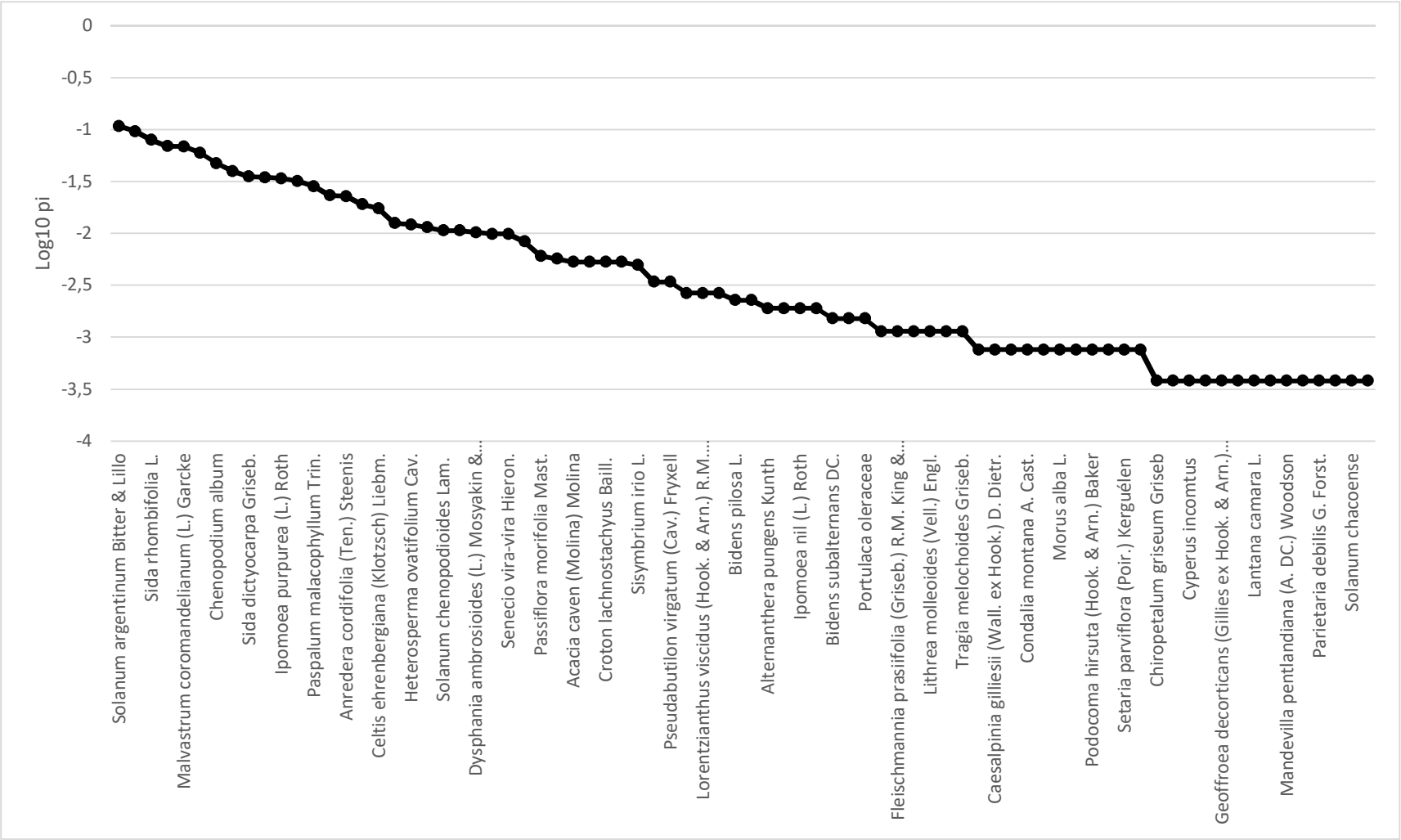
Sitio PA3



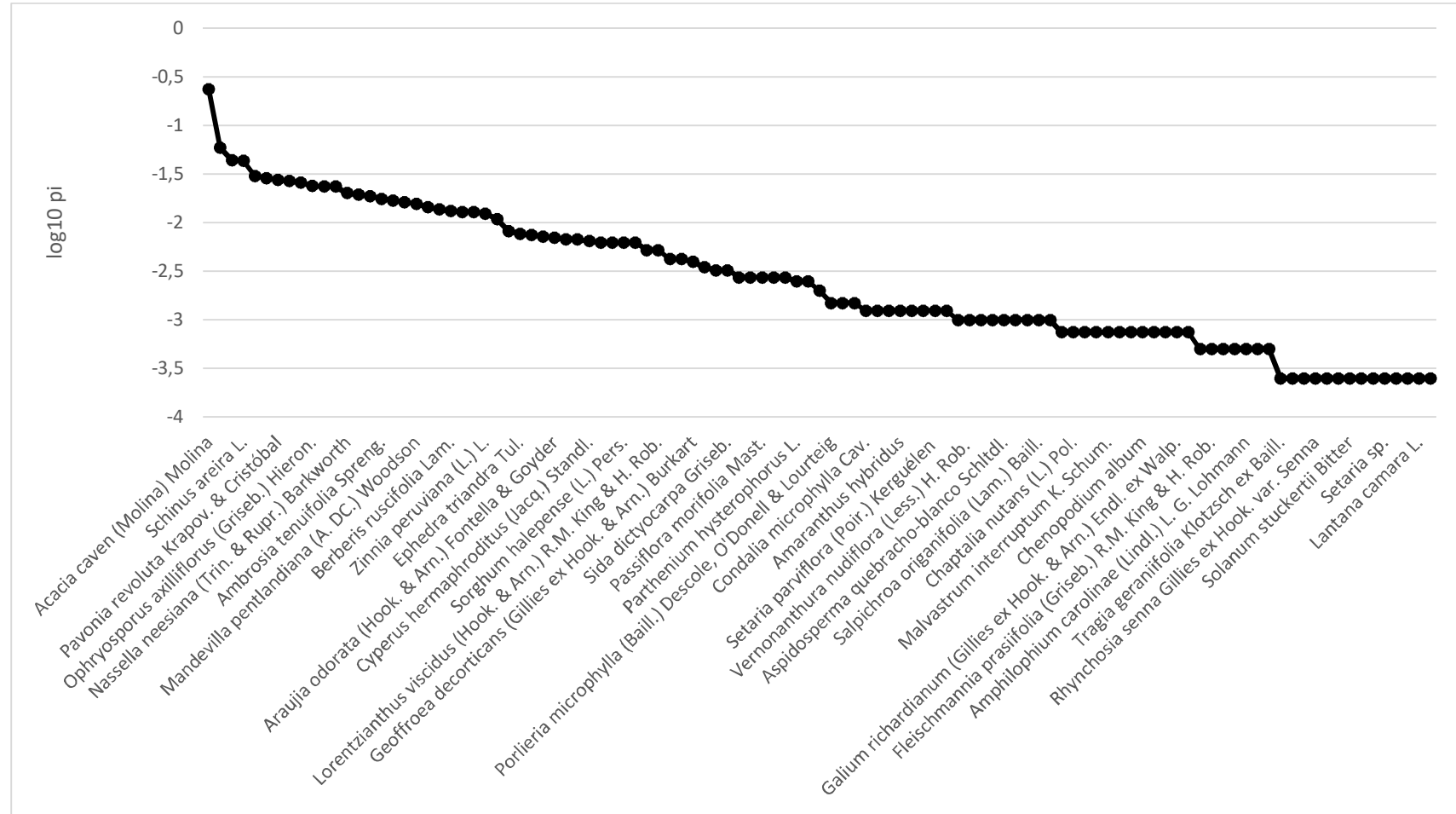
Sitio PA4



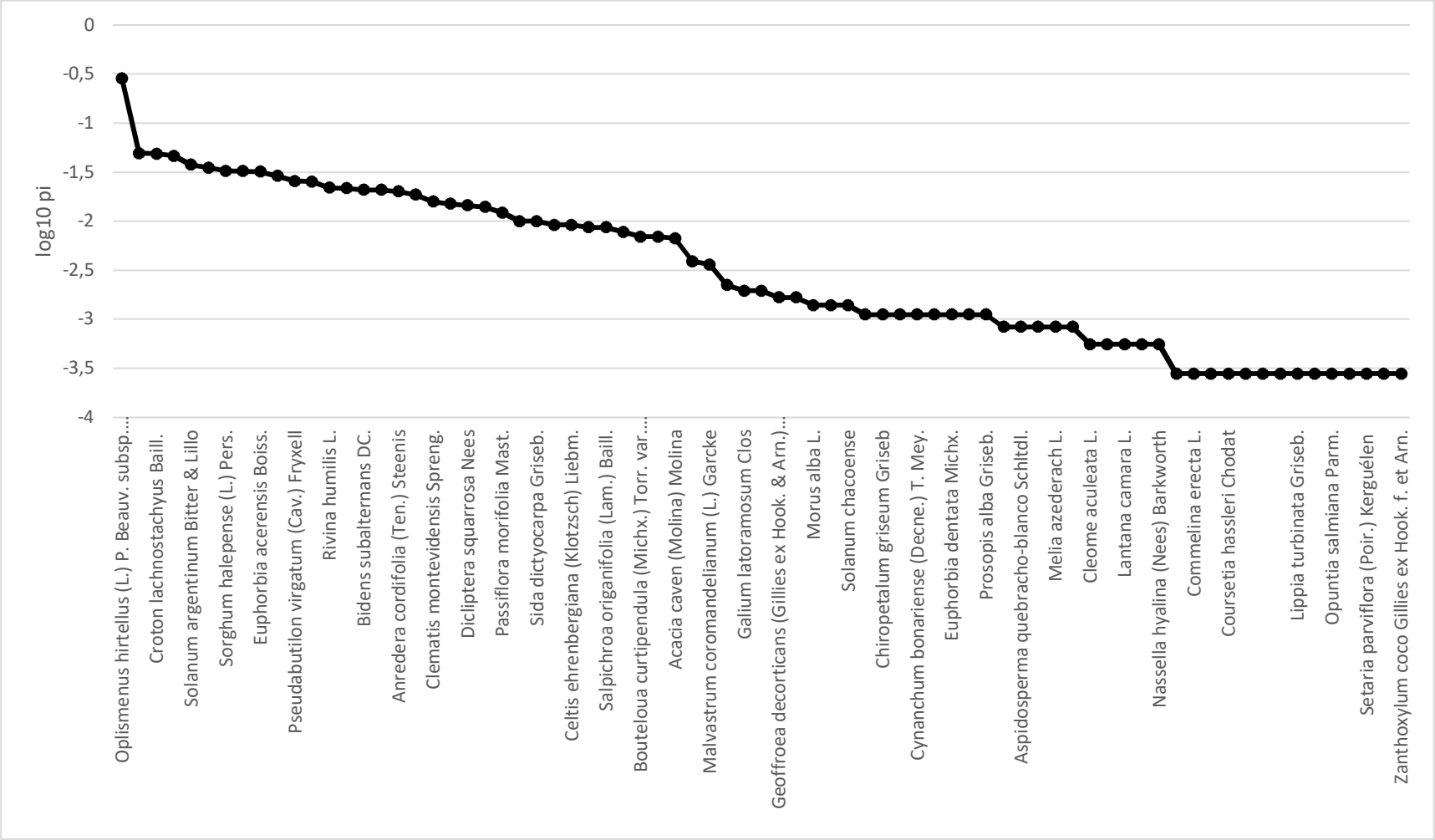
Sitio PB1



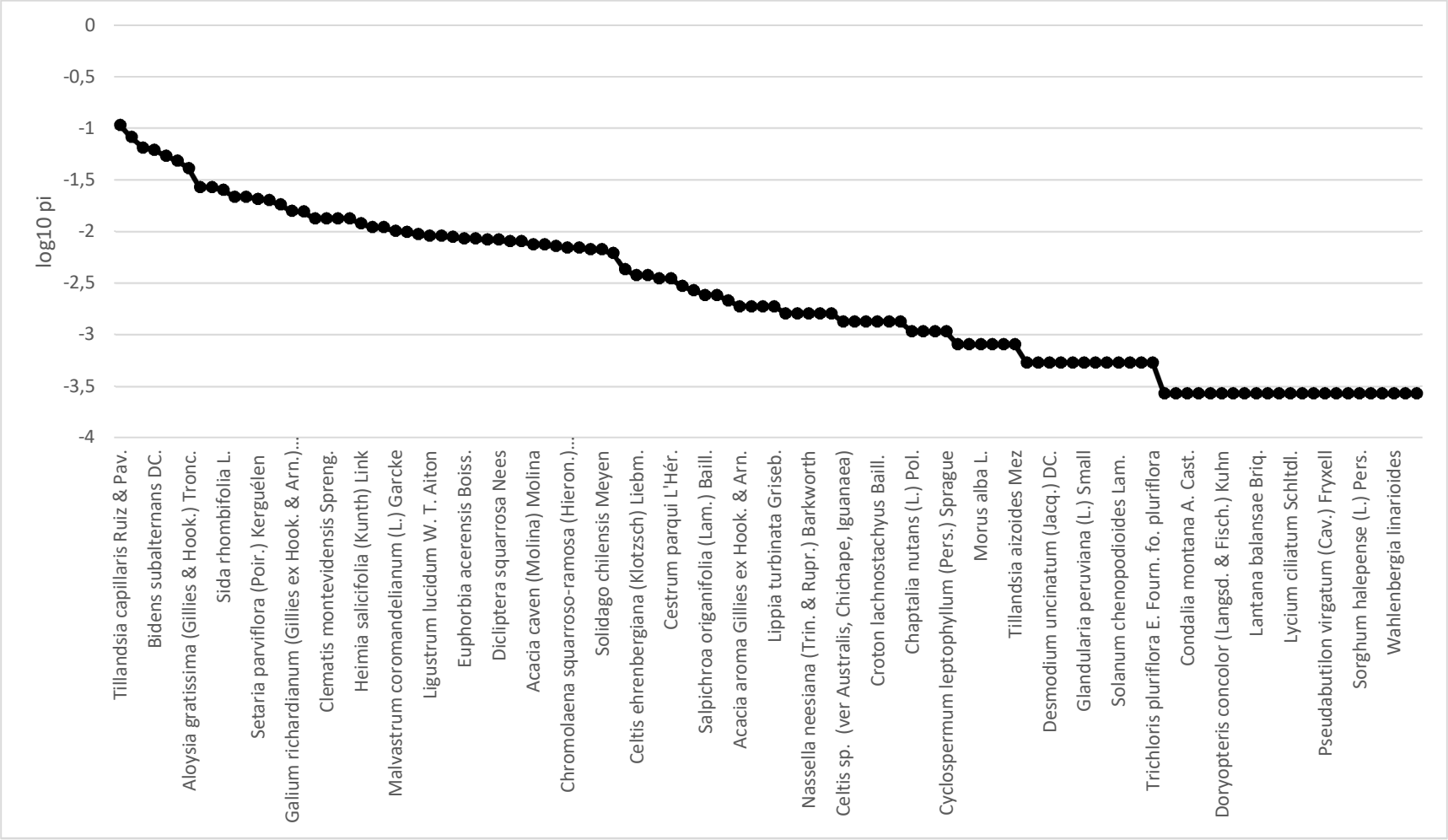
Sitio PB2



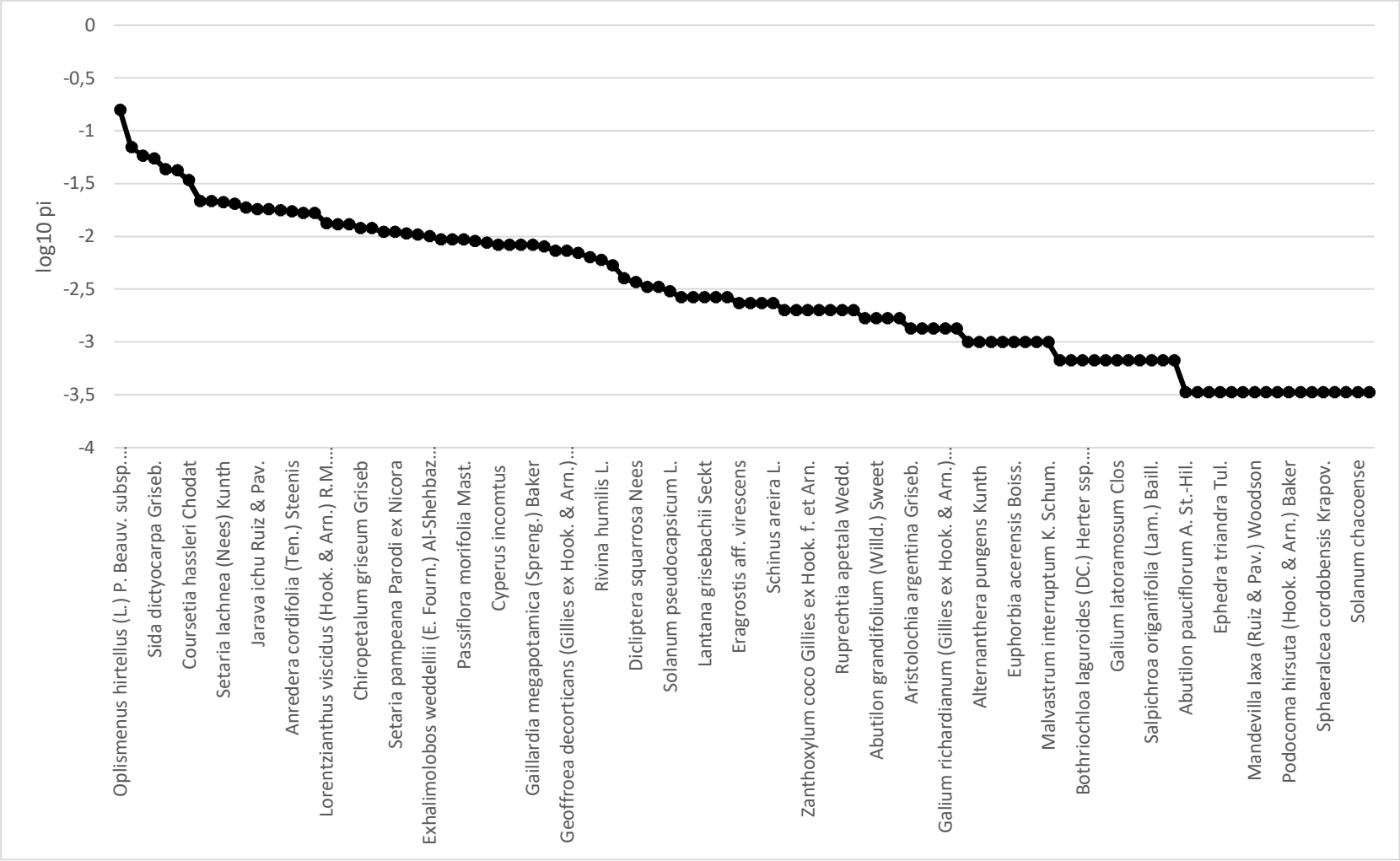
Sitio MA1



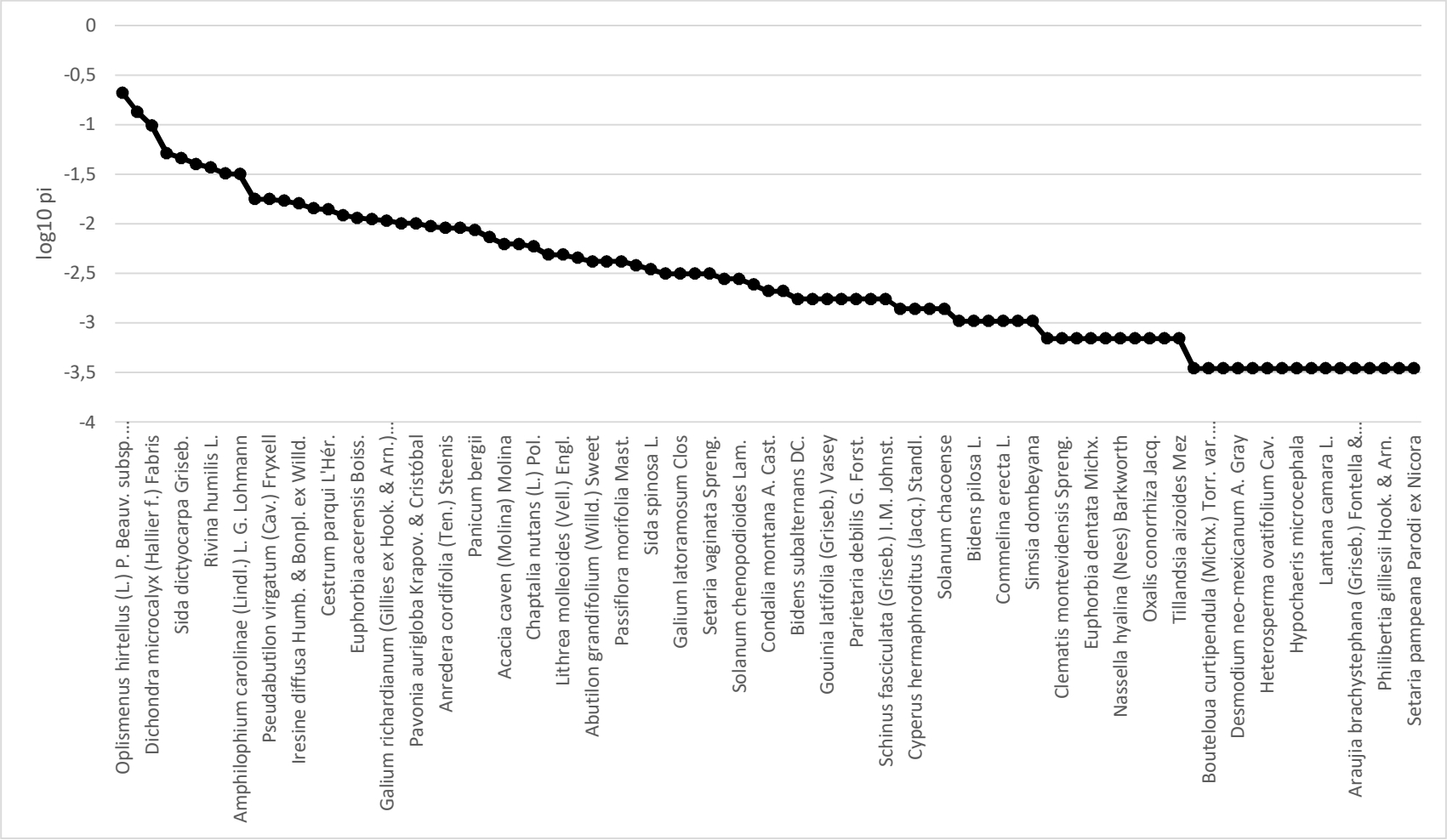
Sitio MA2

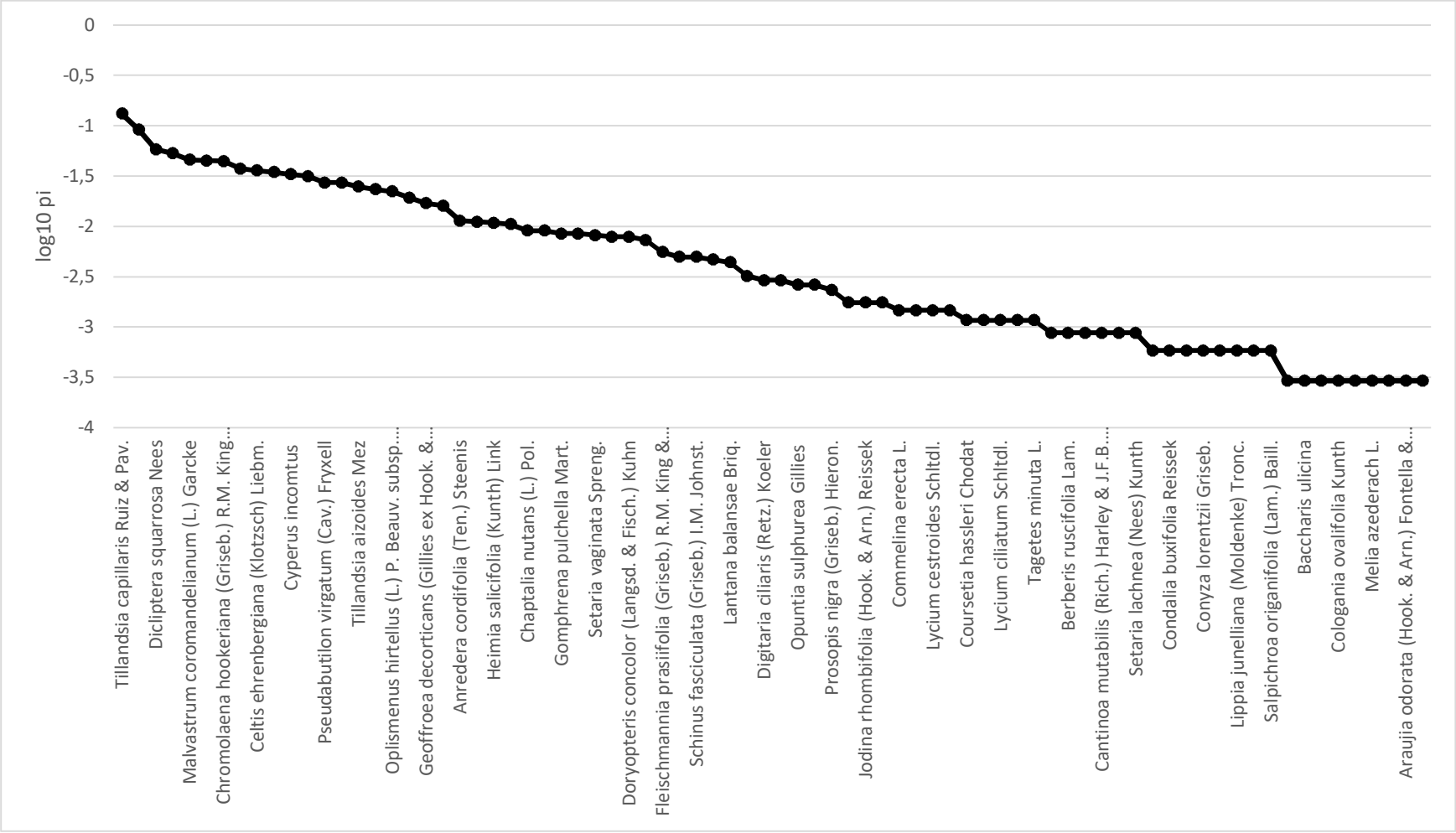


Sitio MA3

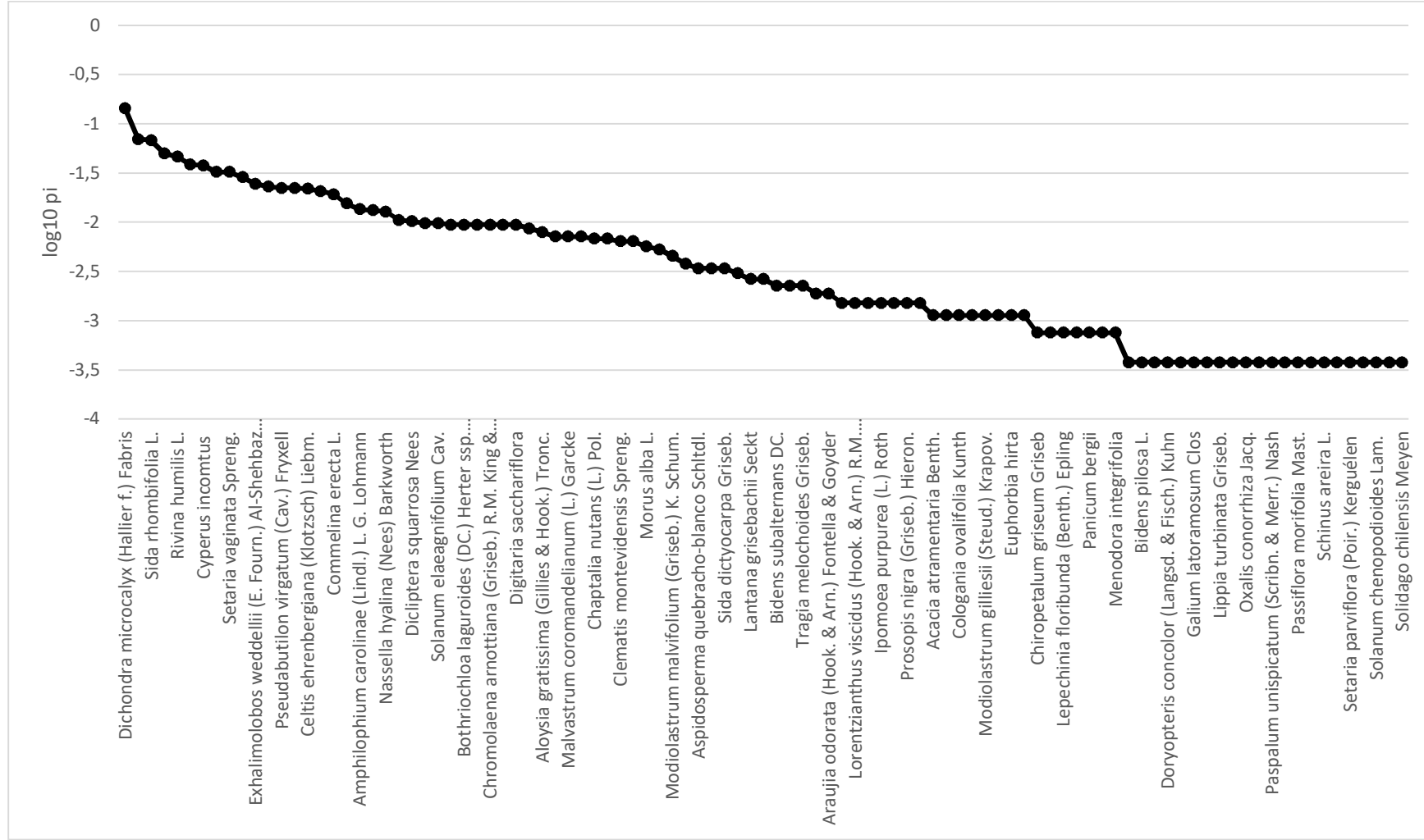


Sitio MA4

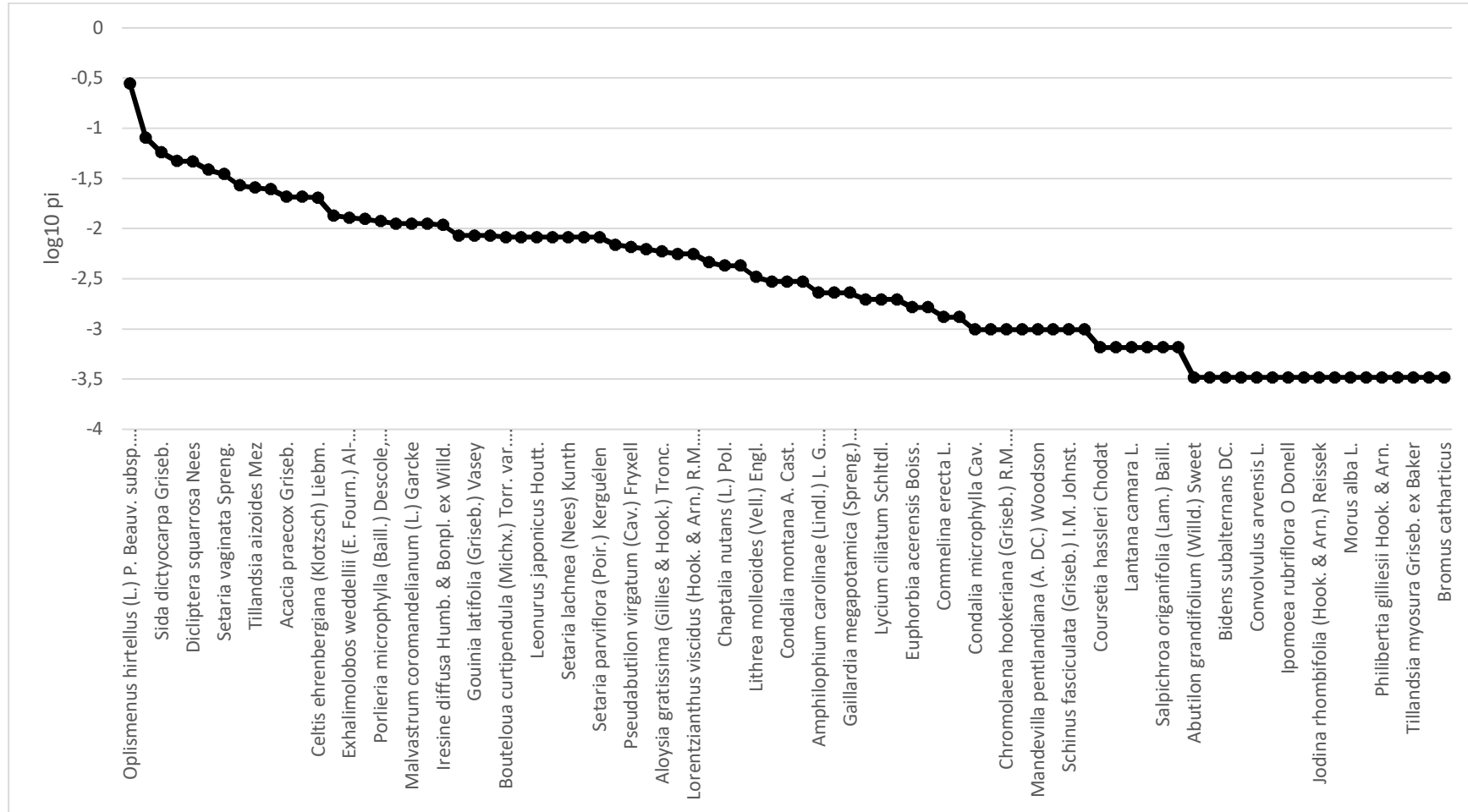




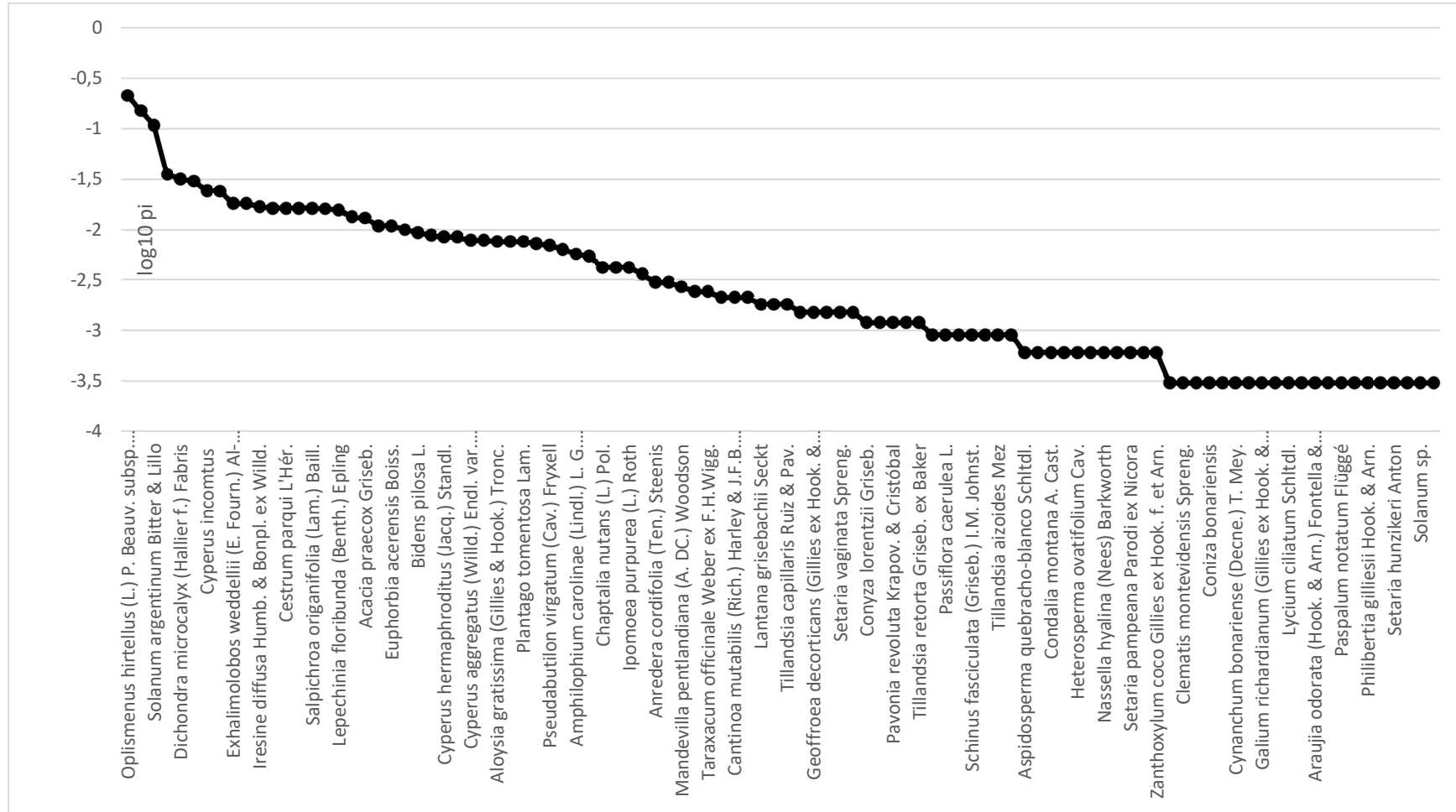
Sitio MA6



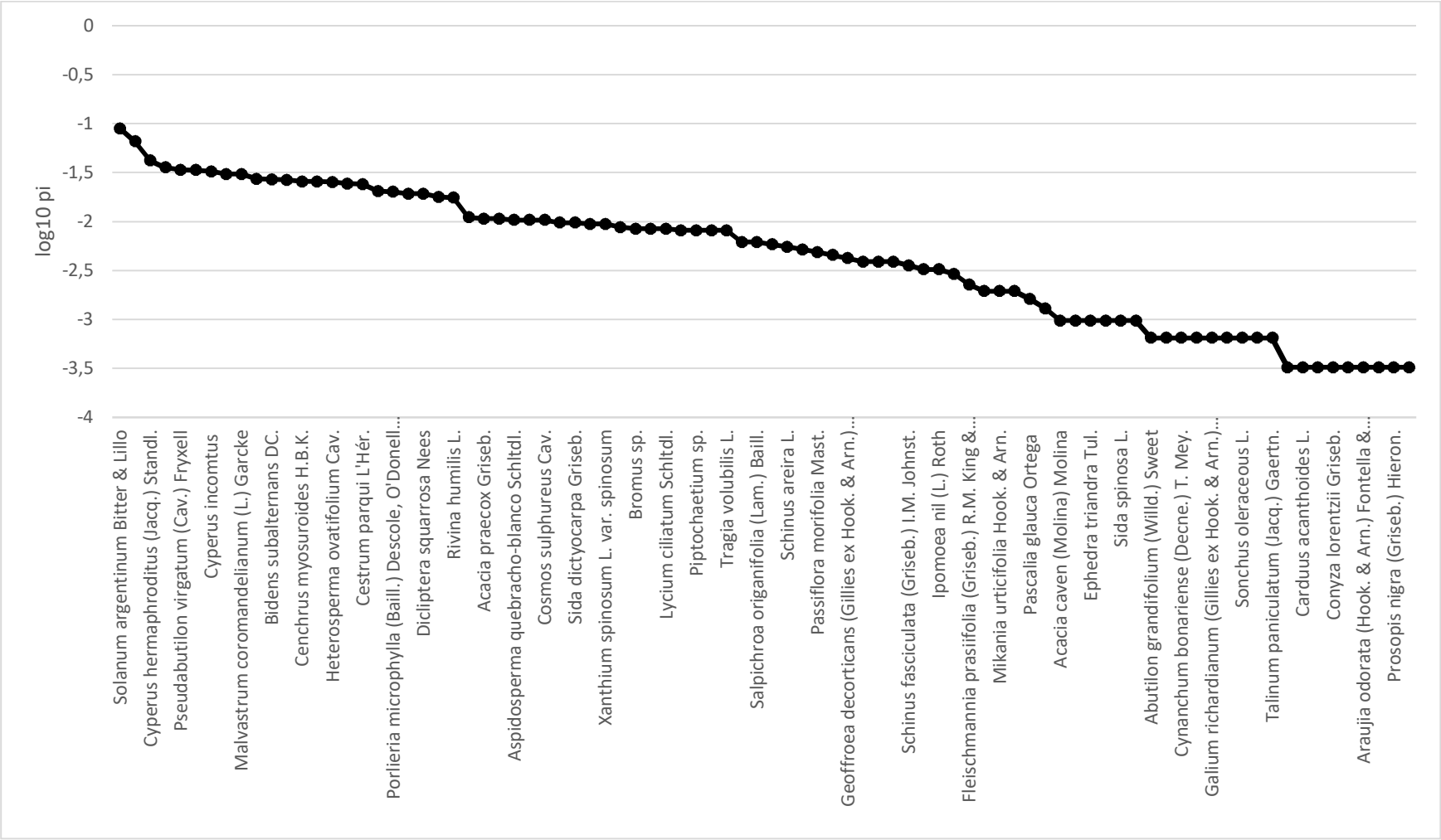
Sitio MB1



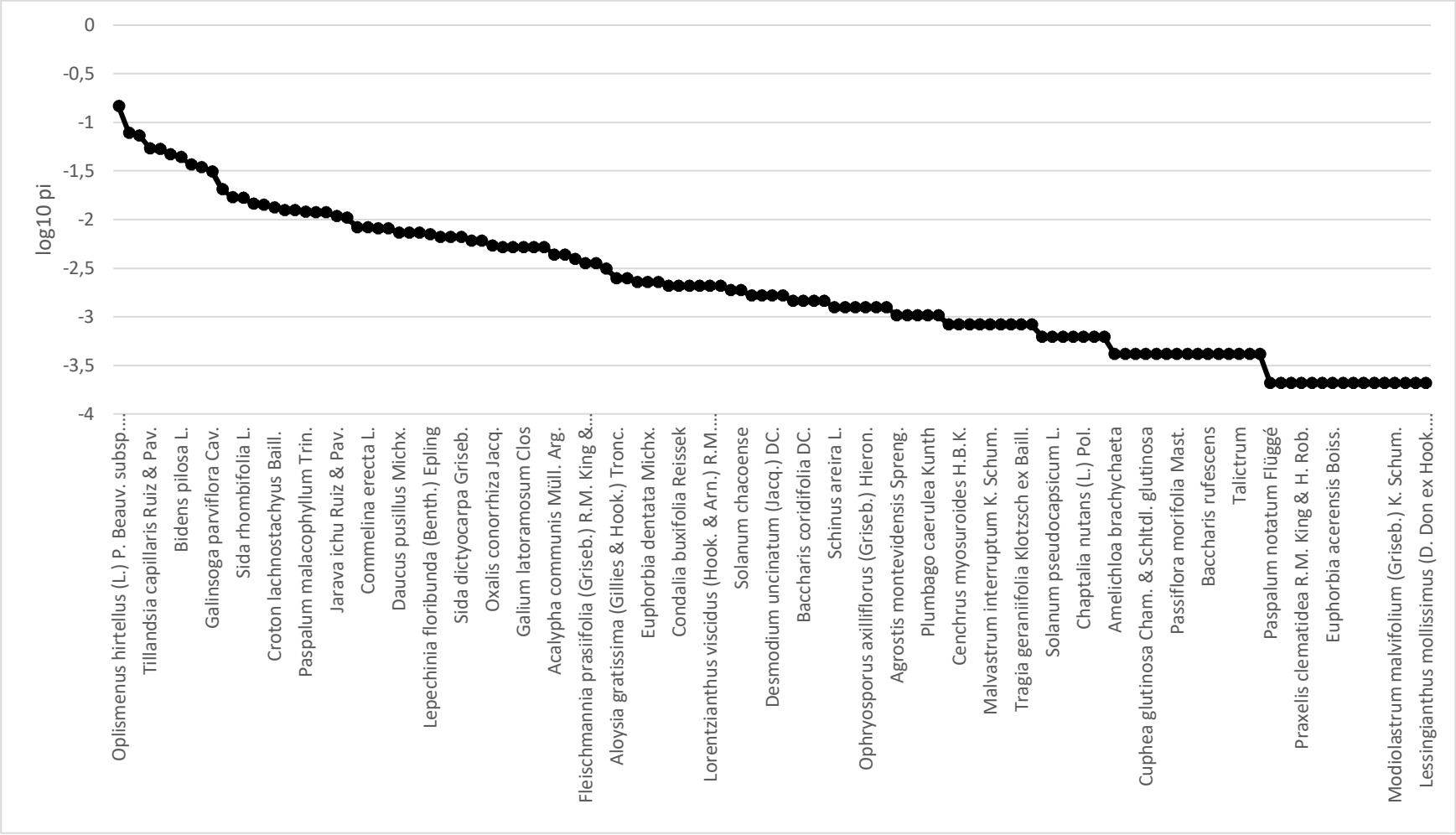
Sitio GA1

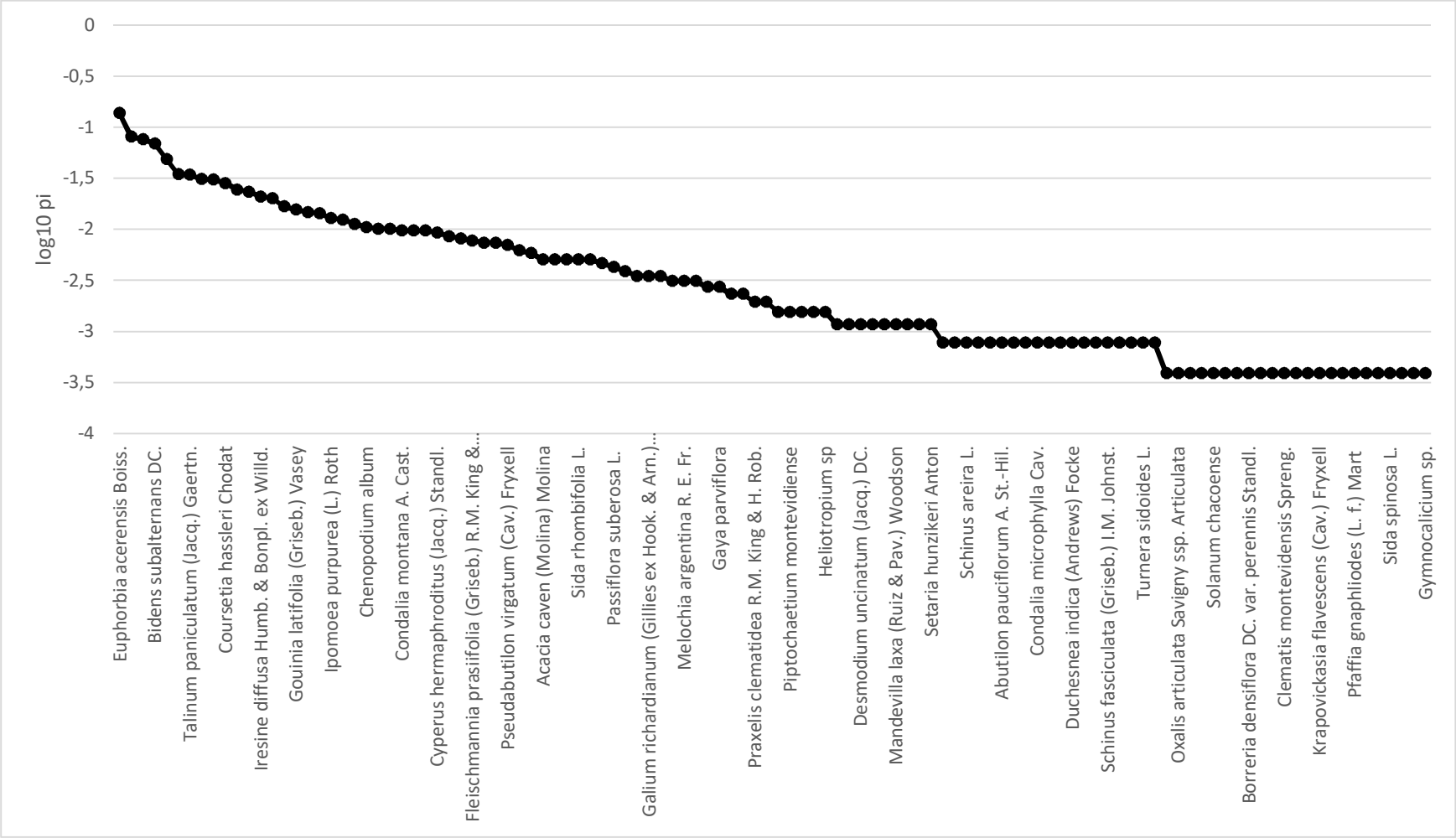


Sitio GA2

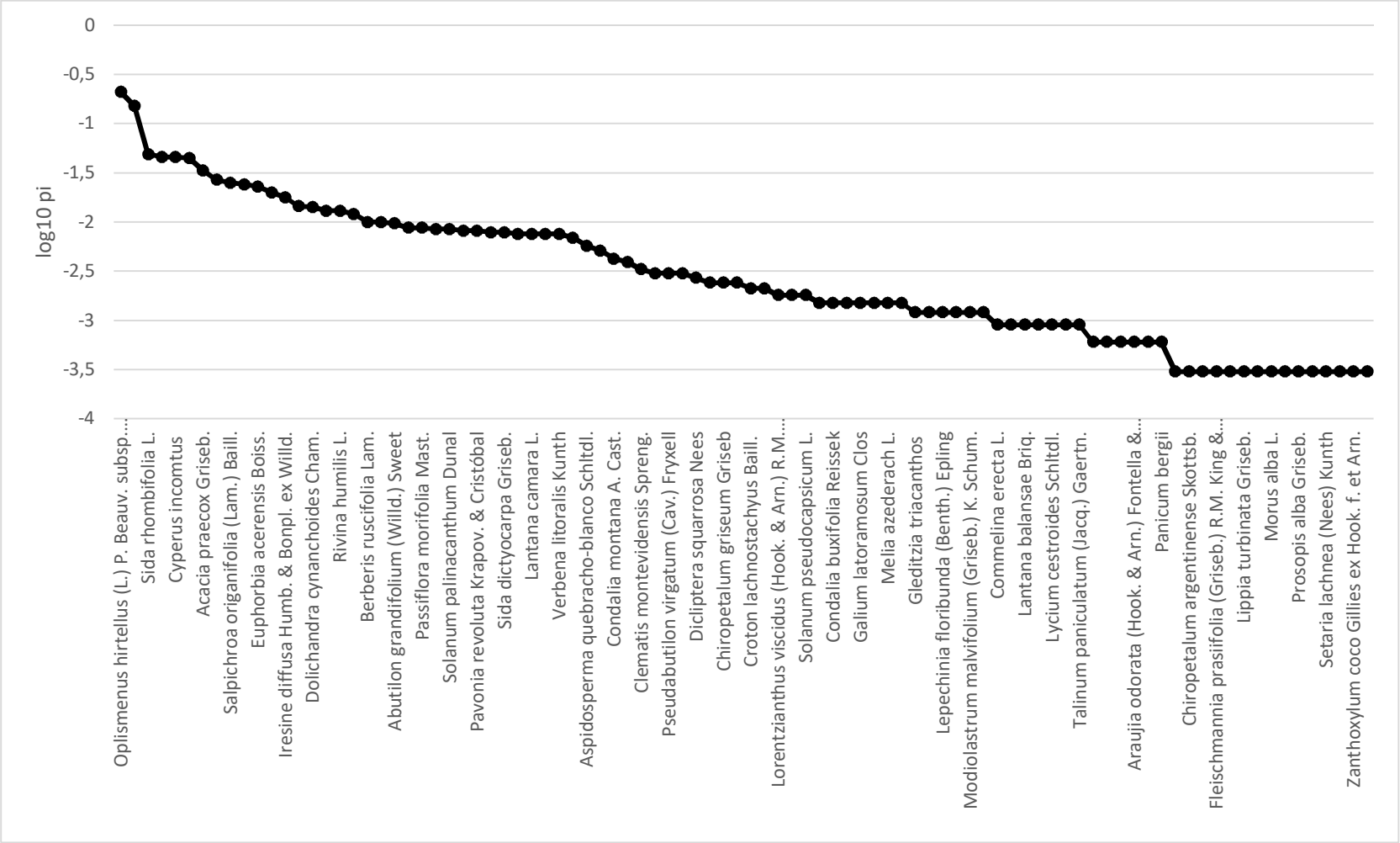


Sitio GB1

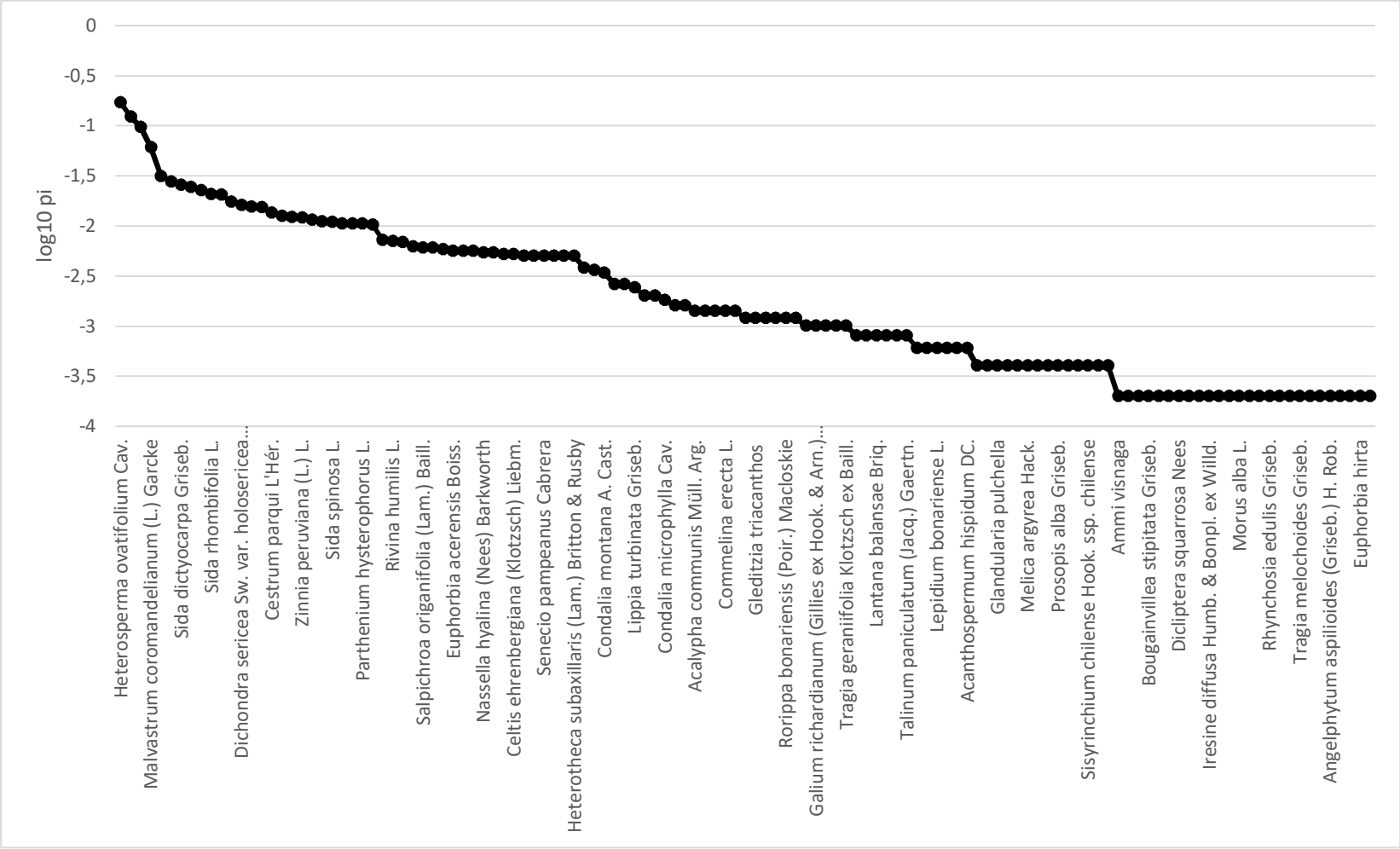




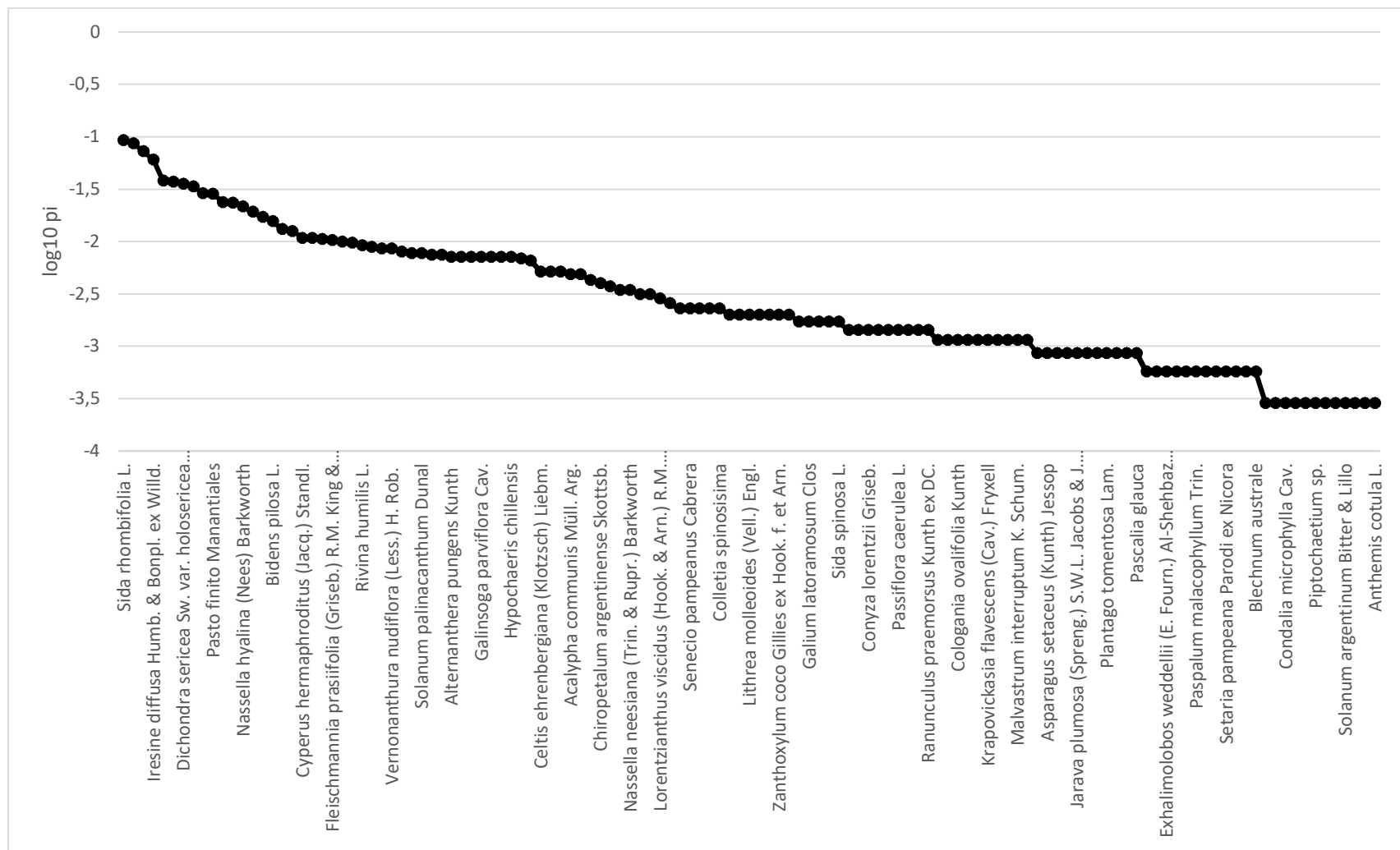
Sitio GB3



Sitio GB4



Sitio GB5



1.2 Densidad de individuos por especie

Se registró un total de 68.696 individuos de plantas vasculares pertenecientes a 69 familias botánicas. Se registró un promedio por sitio de 33 especies con baja densidad relativa de individuos (i.e., especies que se ubicaron en el tercer cuartil de la distribución de densidades relativas) y 17 especies cuya densidad absoluta fue de un individuo (Apéndice I). Por otro lado, se registró un promedio de 7 especies “dominantes” por sitio, es decir, aquéllas que se ubicaron en el primer cuartil de los valores de densidad relativa calculados. Además, se observó que el 75% del total de individuos muestreados correspondió al 13% del total de especies registradas (39 sobre un total de 304 especies). Dentro de este grupo, se encontraron 33 especies herbáceas y 6 especies leñosas (*Solanum argentinum*, *Cestrum parqui*, *Croton lachnostachyus*, *Celtis ehrenbergiana*, *Aloysia gratissima* y *Acacia praecox*).

Al evaluar las posibles relaciones entre la densidad total de individuos de las especies de plantas vasculares registradas y el tamaño de los fragmentos de bosque estudiados, se observó una mayor densidad de individuos en los fragmentos de mayor tamaño, aunque no se evidenciaron relaciones significativas entre estas variables ($F_{(2)} = 0,92$; $p = 0,416$), (Figura 4.5). De manera similar, este análisis arrojó la misma tendencia entre la densidad total de individuos de las especies de plantas vasculares registradas y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada relicto de bosque, aunque la misma no fue estadísticamente significativa ($F_{(1)} = 1,42$; $p = 0,248$), (Figura 4.6).

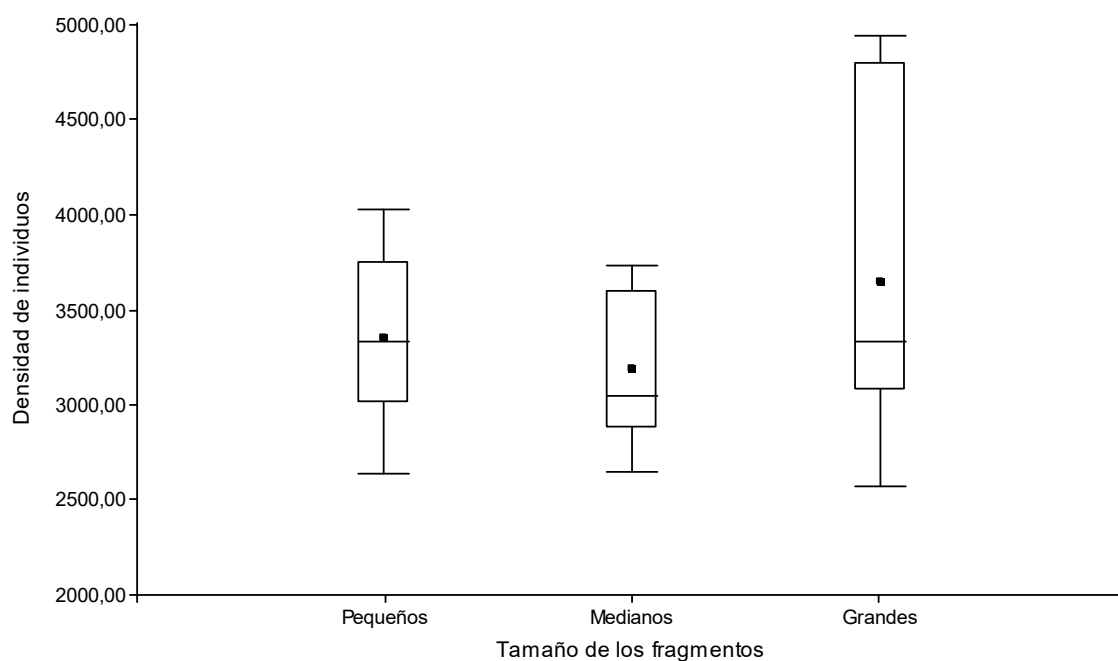


Figura 4.5. Densidad de individuos de las especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque de diferentes tamaños (ver sección Materiales y métodos). Se grafica la mediana, la media y los cuartiles 0,05; 0,25; 0,75 y 0,95.

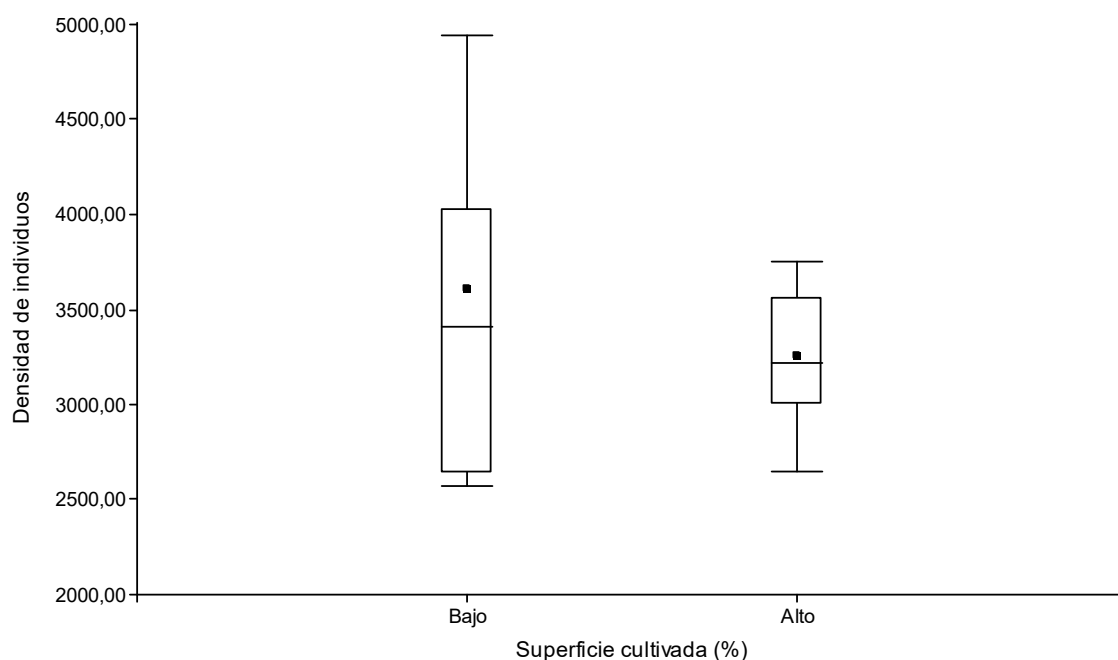


Figura 4.6. Densidad de individuos de las especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque con diferente porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada relicto (ver sección Materiales y métodos). Se grafica la mediana, la media y los cuartiles 0,05; 0,25; 0,75 y 0,95.

1.3 Índices de diversidad

En la Tabla 4.1 se muestran los valores de los índices de Shannon-Wiener (H), recíproco de Simpson (D) y Pielou (J), y los valores ajustados de dichos índices (i.e., excluyendo a las especies que registraron una densidad de un individuo), calculados para los 20 sitios de estudio. Se observaron valores superiores a 3 para el índice de diversidad de Shannon calculado en 19 de los 20 sitios de estudio. Considerando que, en la mayoría de los ecosistemas naturales, este último índice toma valores entre $H=0,5$ y $H=5$, siendo los valores inferiores a 2 indicadores de sitios con baja diversidad y superiores a 3, sitios con una alta diversidad (Shannon, 2001), los valores obtenidos, revelaron que las comunidades vegetales de los 20 sitios estudiados, presentaron valores intermedios o altos de diversidad vegetal. A su vez, se pudo observar que las comunidades vegetales en los fragmentos de mayor tamaño presentaron una diversidad mayor, según el índice de Shannon-Wiener, en comparación con los fragmentos más pequeños (Figura 4.7). En particular, los sitios GB5, GA2 y GB1 fueron los que registraron los mayores valores del índice de Shannon (Tabla 4.1). Los sitios que registraron los valores más bajos de este índice fueron los fragmentos PA4, PA3 y PA2, de tamaño pequeño, registrándose valores intermedios para este índice en los fragmentos de tamaño mediano. Luego de llevar a cabo un análisis de regresión lineal entre el tamaño de los sitios (\log_{10} del área) y el índice de diversidad de Shannon, se observó una relación estadísticamente significativa ($r^2 = 0,27$; $p = 0,01$) (Figura 4.7), lo mismo en el caso del índice ajustado (H') ($r^2 = 0,31$; $p = 0,01$) (Figura 4.8). Considerando que el índice H es particularmente sensible a cambios en la riqueza de especies, estas diferencias observadas entre los fragmentos de distintas clases de tamaño podrían deberse a la mayor densidad de especies que se registró en los fragmentos de mayor tamaño. Por otro lado, no se observaron relaciones significativas entre el índice H calculado para los fragmentos de bosque y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante de los sitios de estudio ($r^2 = 0,16$; $p = 0,08$), aunque gráficamente puede observarse que la diversidad de especies disminuye a medida que se incrementa gradualmente el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a los relictos de bosque estudiados (Figura 4.9).

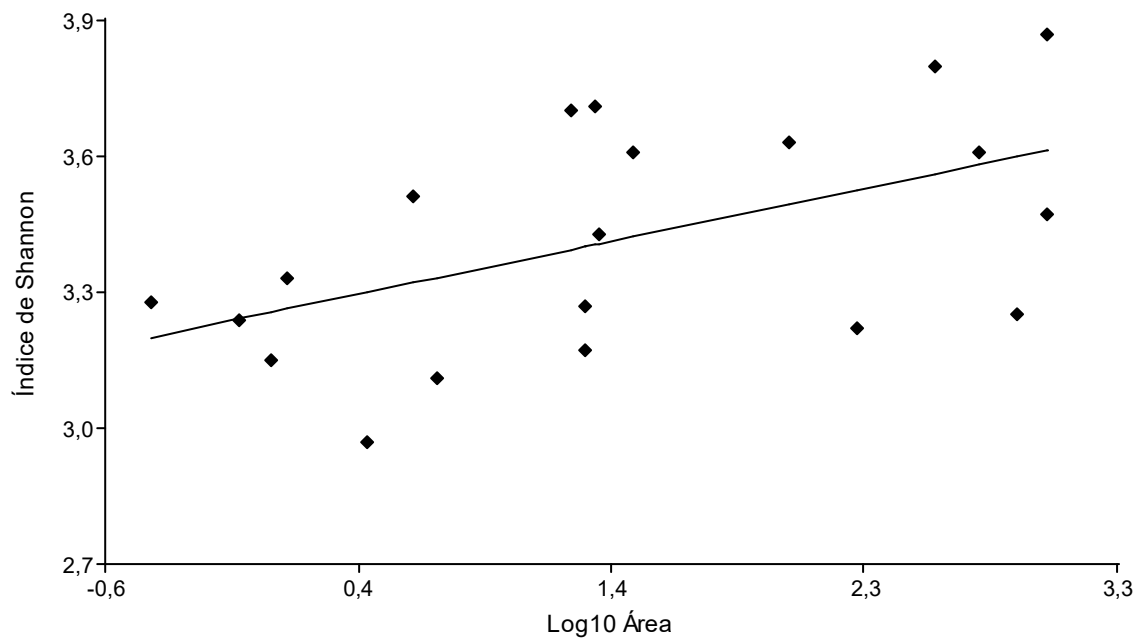


Figura 4.7. Valores del índice de Shannon-Wiener de especies de plantas vasculares en función del logaritmo en base 10 del área (\log_{10} Área), en los 20 fragmentos de bosque estudiados.

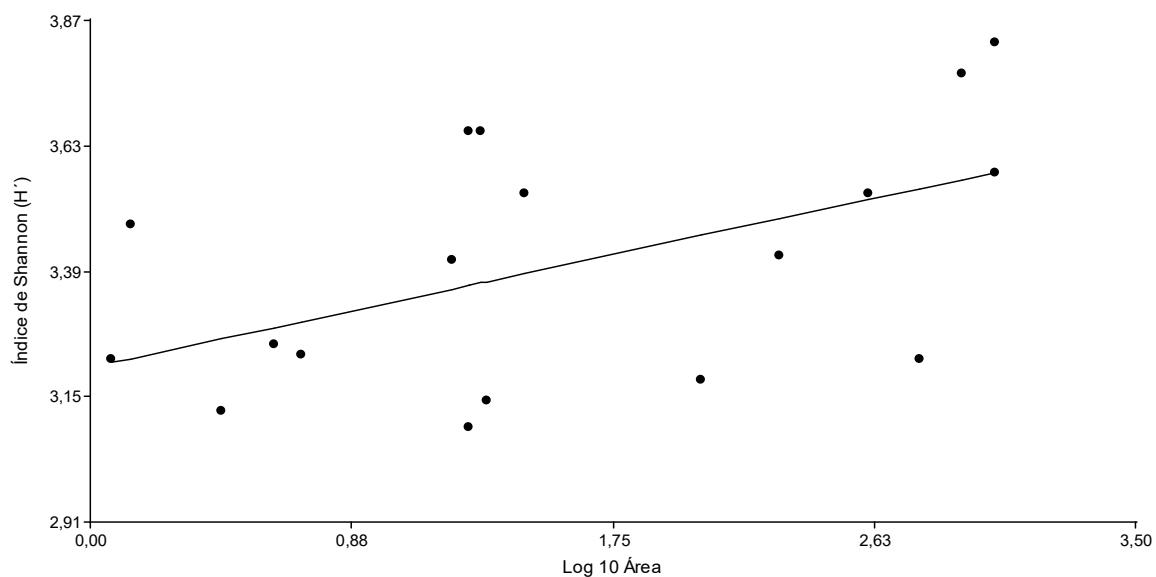


Figura 4.8. Valores del índice de Shannon-Wiener ajustado (H') de especies de plantas vasculares (i.e., excluyendo a las especies que registraron una abundancia de un individuo) en función del logaritmo en base 10 del área (\log_{10} Área), en los 20 fragmentos de bosque estudiados.

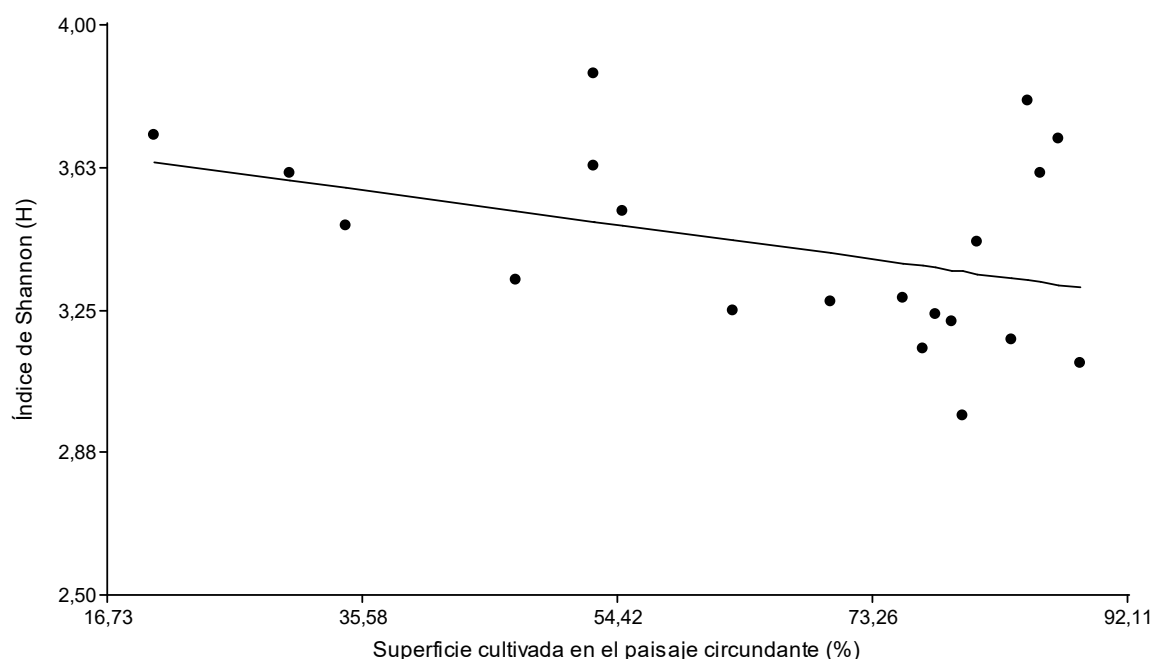


Figura 4.9. Valores del índice de Shannon-Wiener de especies de plantas vasculares en función del porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante, calculado para los 20 fragmentos de bosque estudiados.

Al analizar los valores obtenidos para el índice recíproco de Simpson (D), se observó una relación significativa entre el tamaño de los fragmentos de bosque y los valores obtenidos para dicho índice. En el análisis de regresión lineal entre esta variable y el \log_{10} del área de los sitios de estudio, se observó una relación positiva y estadísticamente significativa entre el índice D y el área de los fragmentos de bosque estudiados ($r^2 = 0,20$; $p = 0,05$), (Figura 4.10), lo mismo en el caso del índice ajustado (D') y el tamaño de los sitios (\log_{10} del área) ($r^2 = 0,22$; $p = 0,04$), (Figura 4.11). Por otro lado, no se evidenciaron relaciones significativas considerando los valores de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento ($r^2 = 0,03$; $p = 0,44$), (Figura 4.12).

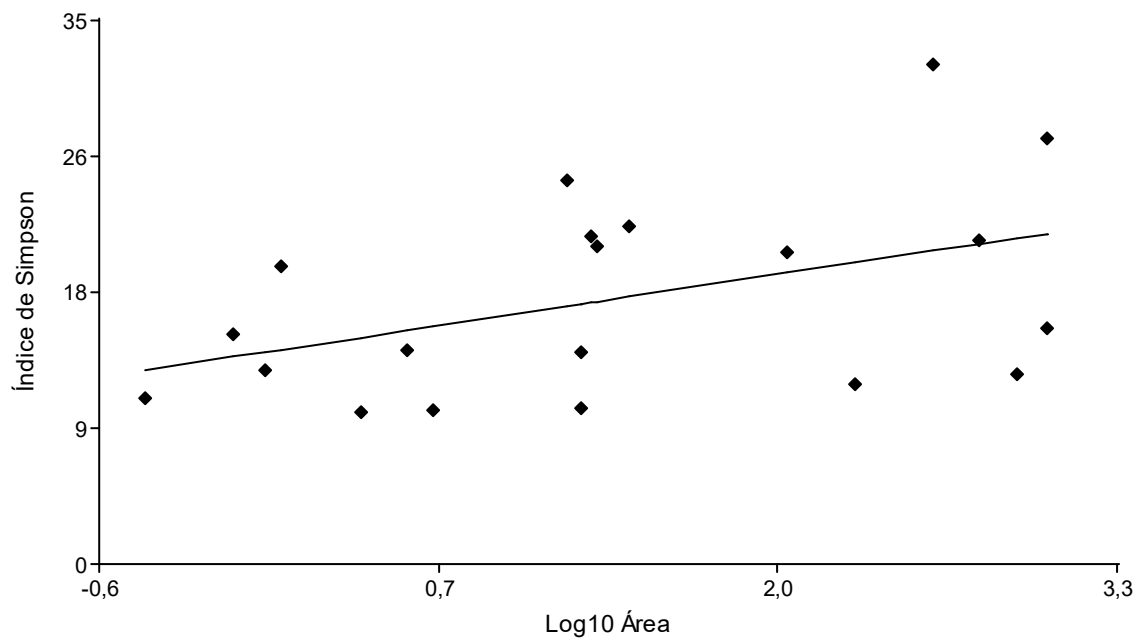


Figura 4.10. Valores del índice recíproco de Simpson (D) calculados a partir del registro de la diversidad de plantas vasculares en los 20 fragmentos de bosque estudiados, en función del logaritmo en base 10 del área de los sitios (\log_{10} Área).

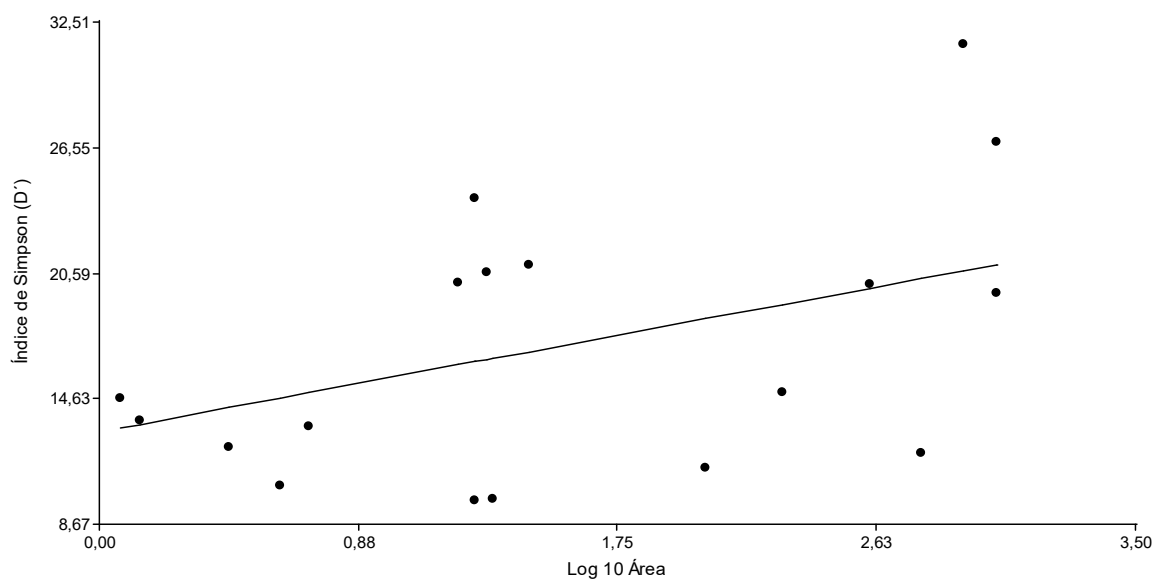


Figura 4.11. Valores del índice de Simpon ajustado (D') de especies de plantas vasculares (i.e., excluyendo a las especies que registraron una densidad de un individuo) en función del logaritmo en base 10 del área (\log_{10} Área) en los 20 fragmentos de bosque estudiados. A este también ponele el ajuste lineal

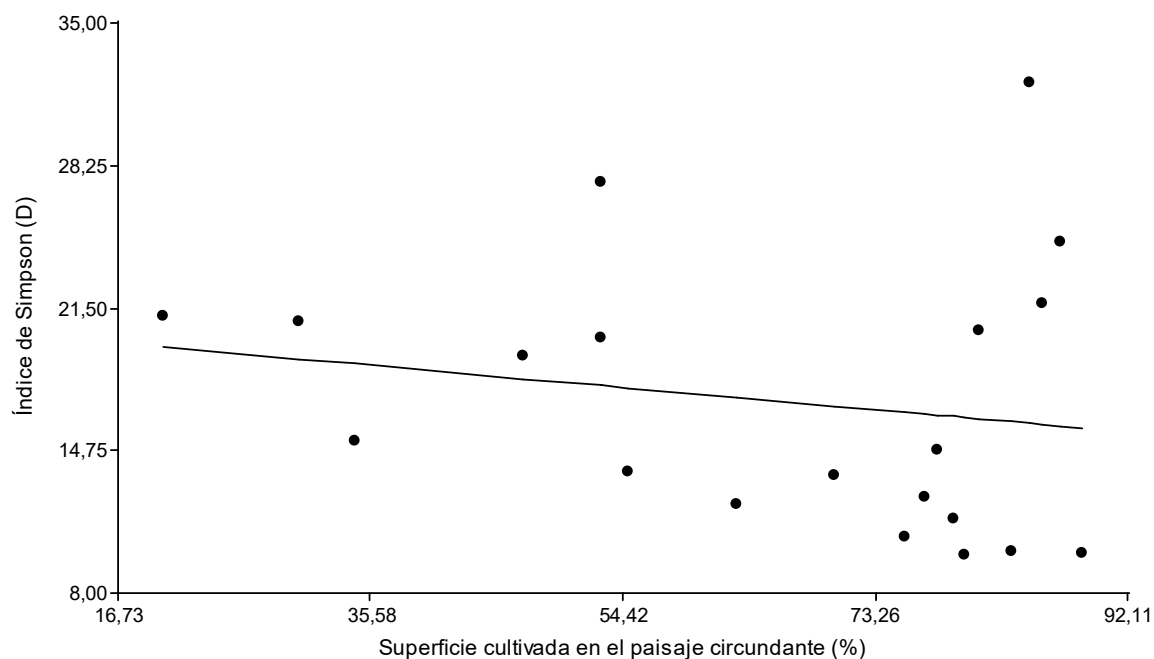


Figura 4.12. Valores del índice recíproco de Simpson (D) calculados a partir del registro de la diversidad de plantas vasculares en los 20 fragmentos de bosque estudiados, en función del porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante, calculado para cada uno de los sitios.

Al analizar los valores obtenidos para el índice de equidad de Pielou (J), se observaron valores significativamente mayores en las comunidades vegetales presentes en fragmentos de bosque de mayor tamaño ($r^2 = 0,27$; $p = 0,02$), (Figura 4.13). Este índice mostró un valor máximo en los sitios GB5, siendo mínimo en el sitio PA4 (Tabla 4.1). Sin embargo, la regresión realizada entre los valores ajustados de este índice (J') y el tamaño de los sitios (\log_{10} del área) no fue estadísticamente significativa ($r^2 = 0,11$; $p = 0,16$), (Figura 4.14). Por otro lado, no se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para este índice y los valores de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento de bosque ($r^2 = 0,09$; $p = 0,20$), (Figura 4.15).

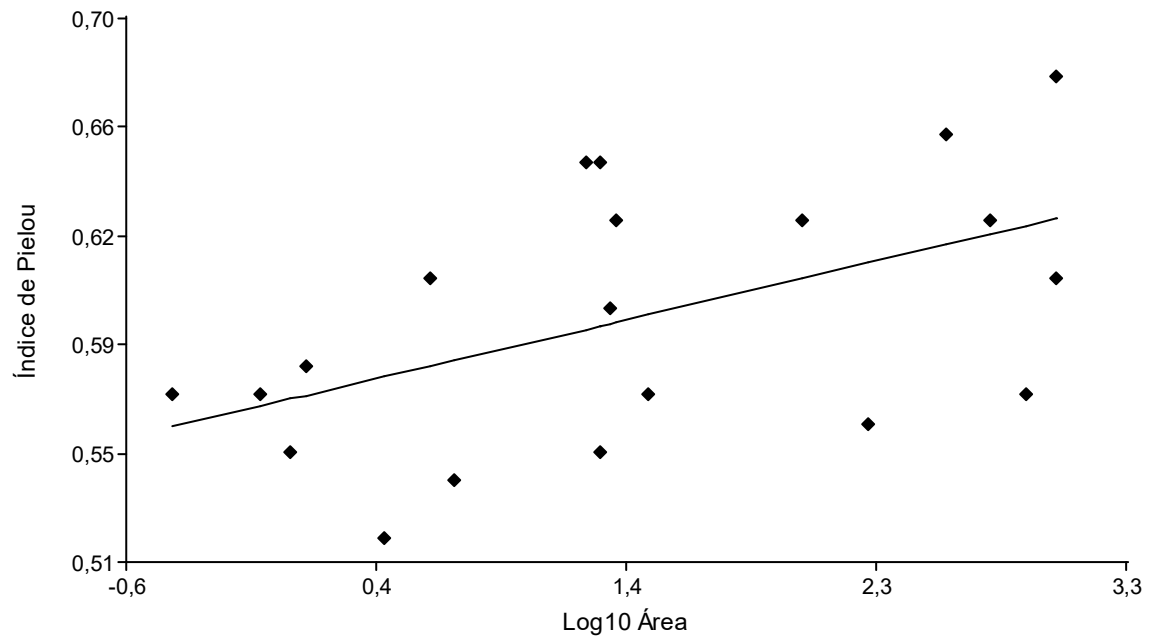


Figura 4.13. Valores del índice de equidad de Pielou (J) calculados a partir del registro de la diversidad de plantas vasculares en los 20 fragmentos de bosque estudiados, en función del logaritmo en base 10 del área de los sitios (\log_{10} Área).

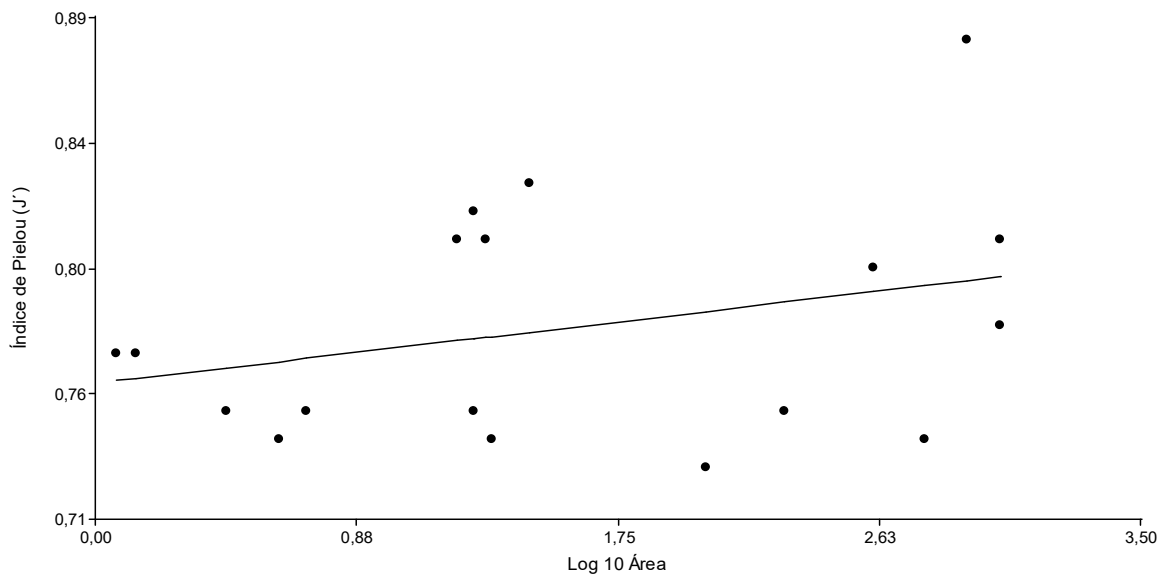


Figura 4.14. Valores del índice de Pielou ajustado (J') de especies de plantas vasculares (i.e., excluyendo a las especies que registraron una densidad de un individuo) en función del logaritmo en base 10 del área (\log_{10} Área), en los 20 fragmentos de bosque estudiados.

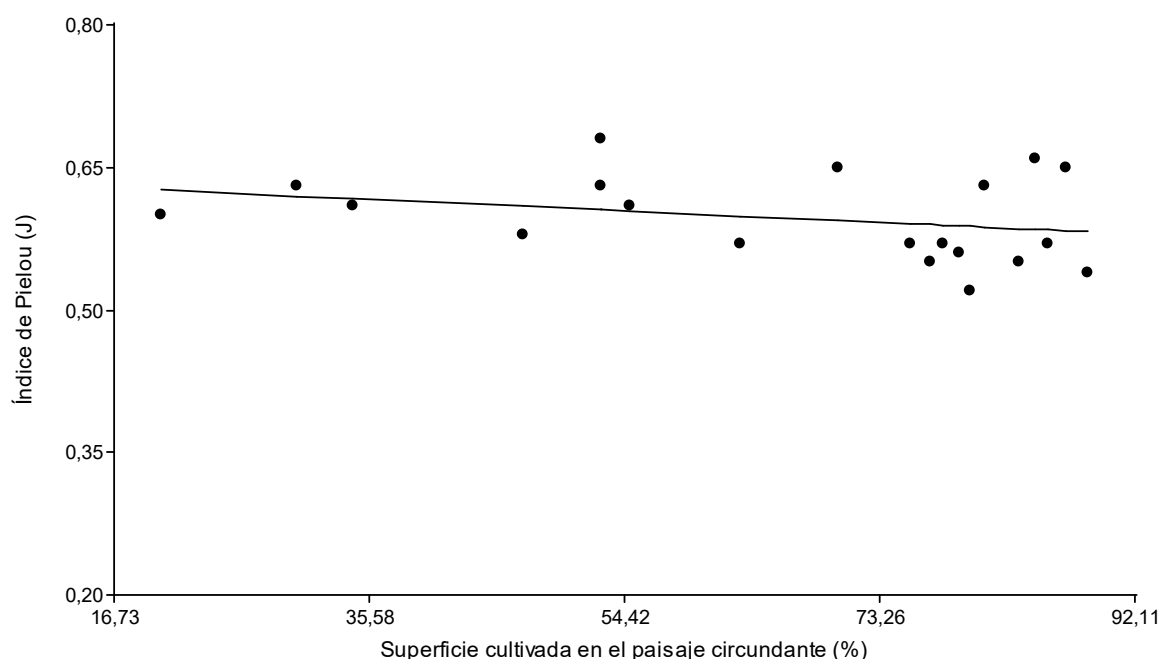


Figura 4.15. Valores del índice de Pielou (J) de especies de plantas vasculares en función del porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante, calculado para los 20 fragmentos de bosque estudiados.

1.4 Composición

Del total de las 304 especies de plantas vasculares registradas, se encontraron 274 nativas del Bosque Chaqueño del centro de Argentina y 30 especies catalogadas como no nativas para nuestro país (Apéndice I). Luego de llevar a cabo el análisis de escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS), se pudieron evidenciar diferencias en la composición de especies en las comunidades naturales de los sitios estudiados, según su categoría de tamaño. Si bien estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas, luego de llevar a cabo un análisis de la varianza con permutaciones (PERMANOVA) ($F=1,93$; $p=0,128$), se pudo observar gráficamente que los fragmentos pequeños presentaron una composición de especies diferente a la de los fragmentos grandes, pudiéndose observar en el gráfico una separación entre los polígonos que agruparon a los sitios de estas dos clases de tamaño (Figura 4.16). Los fragmentos de tamaño mediano presentaron gráficamente una composición de especies semejante a las de las restantes categorías de tamaño, a excepción de uno de los sitios medianos (el fragmento MA4) el cual presentó una composición muy diferente a la de los demás. En este sitio se evidenciaron diferencias en la densidad relativa de especies que en otros sitios fueron raras o poco abundantes y que aquí se registraron como

dominantes o con una alta densidad (por ej. la arbórea nativa *Acacia praecox*, el sub-arbusto nativo *Sida spinosa*, las herbáceas nativas *Dichondra serícea*, *Rorippa bonariensis* y la herbácea perenne no nativa *Taraxacum officinale*). Por este motivo, se puede apreciar gráficamente una separación espacial de este sitio (Figura 4.16).

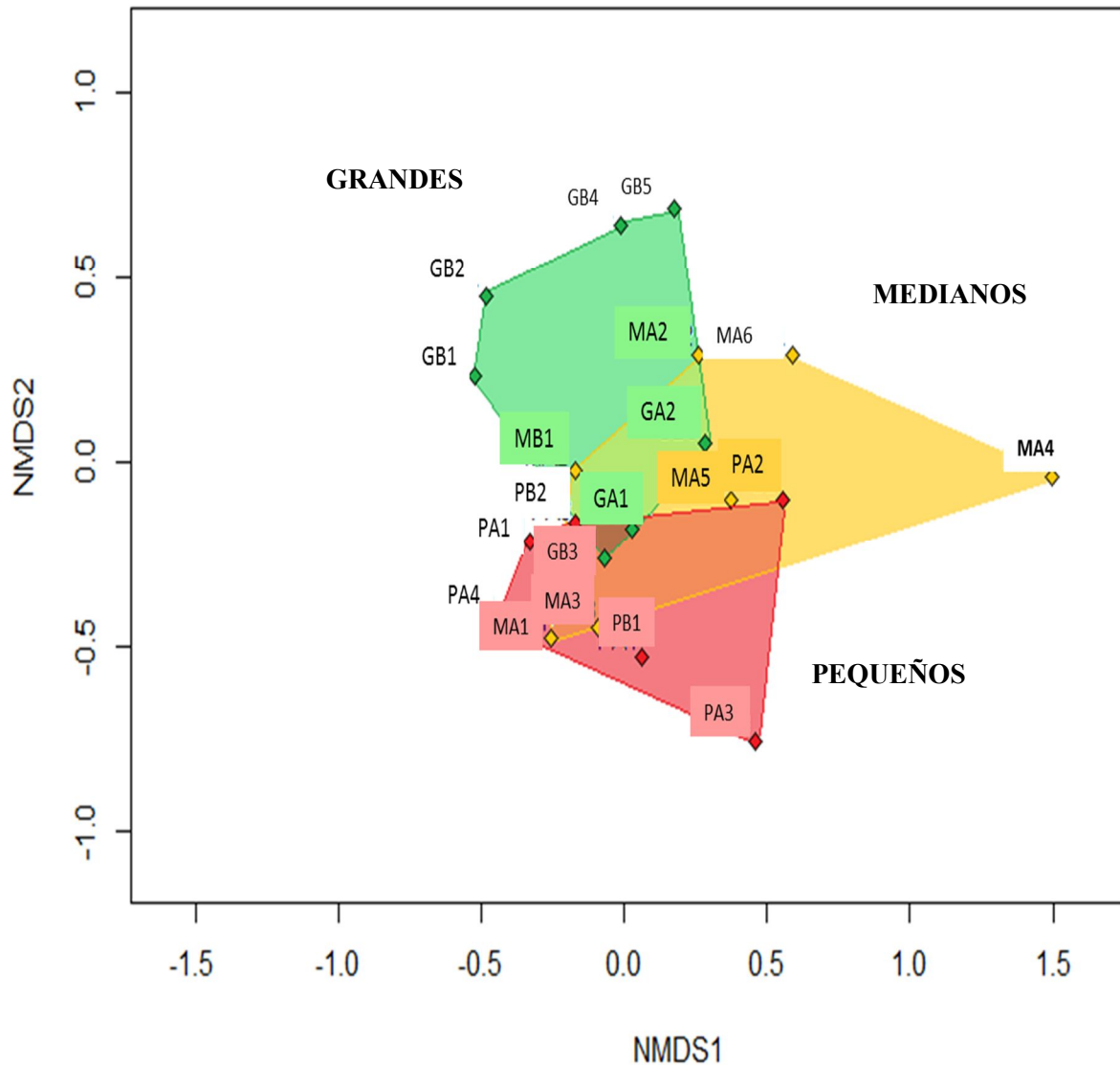


Figura 4.16. Análisis de la composición de especies de plantas a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los sitios ubicados en fragmentos de bosque pertenecientes a la misma categoría de tamaño: pequeños (rojo), medianos (amarillo) y grandes (verde).

En el Apéndice I se muestra la composición y la densidad de especies en cada categoría de tamaño de fragmento. Se registraron 188 especies en fragmentos pequeños, 225 especies en fragmentos medianos y 258 especies en fragmentos grandes; pudiéndose

destacar, además, que los fragmentos pequeños y medianos compartieron 162 especies, los pequeños y grandes 163 especies, los medianos y grandes 186, mientras que hubo 145 especies que estuvieron presentes en las tres categorías de tamaño de fragmentos.

Por otro lado, se registraron 8 especies de plantas exclusivas de los fragmentos pequeños, 22 especies que solo estuvieron en los fragmentos medianos y 54 especies exclusivas de los fragmentos grandes (Figura 4.17).

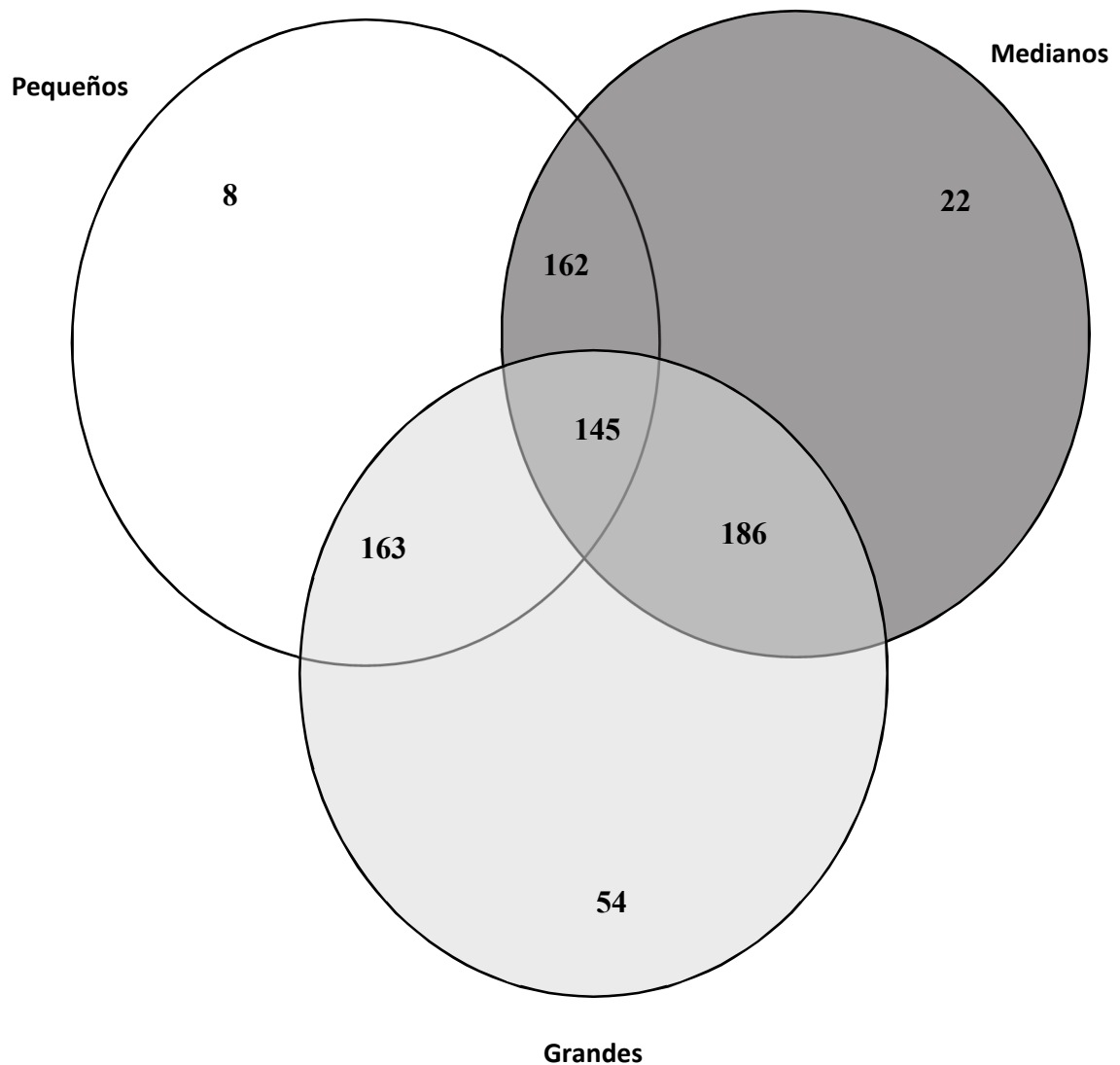


Figura 4.17. Diagrama de Venn que muestra la distribución de las especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque de distintas categorías de tamaño: pequeños (blanco), medianos (gris claro) y grandes (gris oscuro), y sus intersecciones. Los números indican la cantidad de especies encontradas en cada categoría de tamaño de fragmentos, y las especies compartidas en las intersecciones correspondientes. Los nombres completos de las especies pueden verse en el Apéndice I.

Cuando se comparó la composición de especies según el porcentaje de superficie cultivada circundante a los sitios de estudio, se registraron 227 especies vegetales en los sitios con alto porcentaje de superficie cultivada, 242 especies en los sitios con bajo porcentaje de cultivos a su alrededor y 183 especies comunes en ambos tipos de sitios (Figura 4.18).

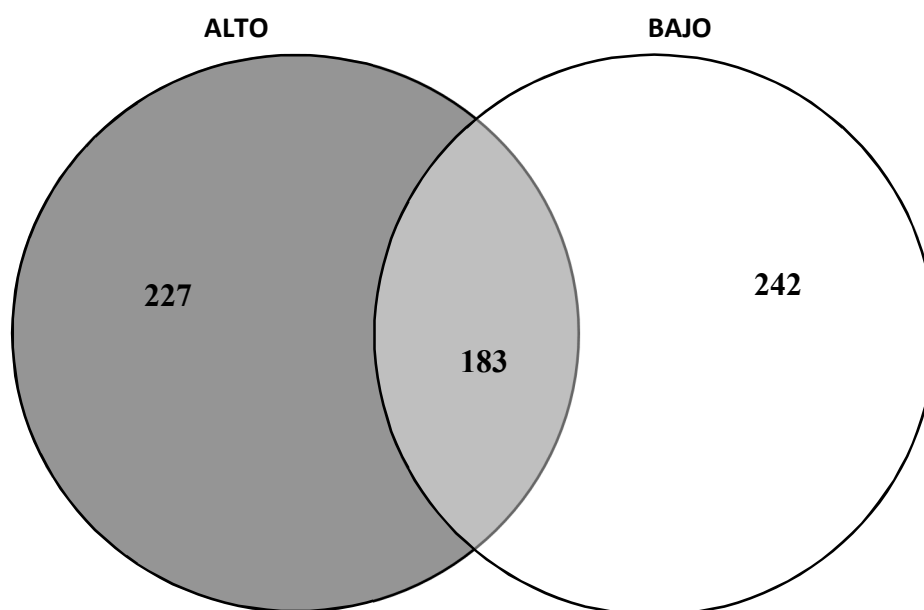


Figura 4.18. Diagrama de Venn que muestra la distribución de especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque con diferente porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante: bajo porcentaje de superficie cultivada (blanco) y alto porcentaje de superficie cultivada (gris oscuro) y su intersección. Los números indican la cantidad de especies encontradas en los fragmentos pertenecientes a las categorías de alto y bajo porcentaje de superficie cultivada, y las especies compartidas en la intersección. Los nombres completos de las especies pueden verse en el Apéndice I.

1.5 Similitudes y diferencias entre la diversidad de plantas vasculares de los fragmentos de bosque estudiados

En la Tabla 4.2 se muestran los valores de los índices de similitud de Sorensen para datos cualitativos (*IS cual*) y cuantitativos (*IS cuant*), de reemplazo de especies de Whittaker (β) y de Complementariedad (*C*), calculados para el gradiente de fragmentación estudiado (fragmentos pequeños, medianos y grandes), y sus respectivos índices ajustados. Se

observaron valores superiores a 50% para el índice de similitud de Sorensen para datos cuali- y cuantitativos calculado para las comunidades de todas las categorías de tamaño de fragmentos. Solo se registró un valor de semejanza entre 30 y 50%, cuando se comparó la similitud de las tres comunidades simultáneamente.

La tasa de recambio de especies de dos comunidades vegetales, medida aquí con el índice de reemplazo de Whittaker, refleja la diferencia de composición de las dos comunidades, y en todos los casos analizados, tomó valores similares, y cercanos a 1. Dado que cuanto mayor es el índice β mayor es la diferencia (recambio de especies) en las comunidades comparadas, este índice fue mayor al comparar los fragmentos pequeños con los grandes, indicando que el recambio de especies es mayor entre los relictos de bosque con mayor diferencia en su tamaño (área).

Dado que la complementariedad varía desde cero, cuando ambos sitios son idénticos en composición de especies, hasta uno, cuando las especies de ambos sitios son completamente distintas (Colwell y Coddington, 1994), en todos los casos se observó un valor bajo de complementariedad entre 0,3 y 0,4, por lo tanto, los sitios pequeños, medianos y grandes serían parecidos en su composición de especies. También podemos expresar este valor como el porcentaje de especies de plantas que son complementarias entre fragmentos pequeños y medianos (35%), entre fragmentos pequeños y grandes (42%), y entre fragmentos medianos y grandes (37%). Sin embargo, este índice tomó un valor cercano a 1, cuando se comparó la complementariedad entre fragmentos pequeños, medianos y grandes (0,72; es decir, un 72% de las especies de plantas son complementarias entre las tres categorías de tamaño de fragmentos).

Tabla 4.2. Similitudes y diferencias entre la diversidad de plantas vasculares de los fragmentos de bosque estudiados. Se presentan los valores de los índices de similitud de Sorensen para datos cualitativos (*IS cual*) y cuantitativos (*IS cuant*), de reemplazo de especies de Whittaker (β) y de Complementariedad (*C*), calculados para el gradiente de fragmentación estudiado (FP= fragmentos pequeños, FM= fragmentos medianos y FG= fragmentos grandes), y sus respectivos índices ajustados (i.e., excluyendo a las especies que registraron una densidad de un individuo).

Comunidades	<i>IS cual</i>	<i>IS cuant</i>	β	C	Índices ajustados			
					<i>IS' cual</i>	<i>IS' cuant</i>	β'	C'
FP-FM	78,5%	68,1%	1,09	0,35	79,36%	68,28%	1,09	0,34
FP-FG	73,1%	59,63%	1,16	0,42	71,22%	59,6%	1,16	0,45
FM-FG	77,02%	61,47%	1,07	0,37	72,56%	60,97%	1,09	0,43
FP-FM-FG	43,3%	34,35%	1,16	0,72	42,48%	32,97%	1,18	0,73

En la Tabla 4.3 se muestran los valores de los índices de similitud de Sorensen para datos cualitativos (*IS cual*) y cuantitativos (*IS cuant*), de remplazo de especies de Whittaker (β) y de complementariedad (C), calculados para los fragmentos de bosque con alto y bajo porcentaje de superficie cultivada en su paisaje circundante, y sus respectivos índices ajustados. Se observó que ambas comunidades presentan un alto porcentaje de especies en común, comparten el 82% de las especies, mientras que al evaluar este índice con datos cuantitativos observamos que, el porcentaje de densidad de individuos de las especies compartidas, es menor (63%), siendo por lo tanto no tan semejante estas dos comunidades respecto a las densidades de individuos de las especies que comparten. Al analizar el grado de remplazo de especies entre fragmentos de bosque con alto y bajo porcentaje de superficie cultivada en su paisaje circundante, se obtuvo un valor de 1,18. Si miramos este valor y el obtenido para este índice al evaluar las comunidades según el tamaño de los fragmentos (entre fragmentos pequeños y grandes: 1,16), observamos que este índice toma valores semejantes, por lo que al comparar las comunidades según el tamaño de los fragmentos, o según el porcentaje de superficie cultivada que hay en el paisaje que las rodea, no hay diferencias en el porcentaje de recambio de especies. El valor del índice de complementariedad fue bajo (30%) entre los fragmentos de bosque con alto y bajo porcentaje de cultivos a su alrededor, siendo por lo tanto, muy parecidas en su composición de especies.

Tabla 4.3. Similitudes y diferencias entre la diversidad de plantas vasculares de los fragmentos de bosque estudiados. Se presentan los valores de los índices de similitud de Sorensen para datos cualitativos (*IS cual*) y cuantitativos (*IS cuant*), de reemplazo de especies de Whittaker (β) y de Complementariedad (*C*), calculados para el gradiente de fragmentación estudiado, según el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante (alto, bajo), y sus respectivos índices ajustados (i.e., excluyendo a las especies que registraron una densidad de un individuo).

Porcentaje de superficie cultivada	<i>IS cual</i>	<i>IS cuant</i>	β	<i>C</i>	Índices ajustados			
					<i>IS' cual</i>	<i>IS' cuant</i>	β'	<i>C'</i>
Alto-Bajo	82,24%	63,06%	1,18	0,30	79,04%	62,89%	1,04	0,36

1.6 Supervivencia de plantas vasculares nativas

Se registró un valor promedio de supervivencia por sitio, luego de tres años de monitoreo, de $74,59\% \pm 30,79$, considerando el total de individuos de plantas nativas presentes en cada sitio. Los fragmentos PA3 y GB1 presentaron los valores de supervivencia más altos, con un promedio de 83,6 y 81,8%, respectivamente. El sitio PA4 fue el que presentó el valor de supervivencia más bajo, con un promedio de 64,9% (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Supervivencia de plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados. La tabla muestra el listado de sitios donde se registró y marcó las especies, a las cuales fue posible cuantificar su supervivencia luego de tres años de monitoreo, para el caso de las especies perennes, o al inicio y final de las temporadas de muestreo, para las especies anuales y bianuales (ver sección Materiales y Métodos). Los valores corresponden a la supervivencia promedio de todas las especies marcadas en cada uno de los 20 fragmentos de bosque estudiados y el valor de desvío estándar (DE) asociado.

FRAGMENTO DE BOSQUE	SUPERVIVENCIA ± DE
PA3	83,61±25,23
GB 1	81,80±26,28
GA2	81,56±24,43
GB3	80,97±25,90
GB4	80,00±29,91
MA1	78,71±28,86
PB1	78,16±33,04
GA1	77,53±34,52
MA4	77,03±30,63
GB2	76,65±36,11
MA5	73,09±27,67
PA2	72,74±31,87
MA3	71,43±31,14
MA2	71,39±33,99
PB2	70,55±34,25
GB5	69,18±27,93
MB1	68,99±31,31
MA6	67,30±33,79
PA1	67,22±33,37
PA4	64,94±33,9

Al evaluar las posibles relaciones entre la supervivencia de las especies de plantas nativas registradas y el tamaño de los fragmentos de bosque estudiados, no se evidenciaron relaciones estadísticamente significativas entre estas variables ($F_{(2)} = 1,04$; $p = 0,374$), (Figura 4.19). Este análisis arrojó una tendencia similar entre la supervivencia de las especies de plantas vasculares registradas y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada relicto de bosque, aunque la misma no fue estadísticamente significativa ($F_{(1)} = 0,04$; $p = 0,846$), (Figura 4.20).

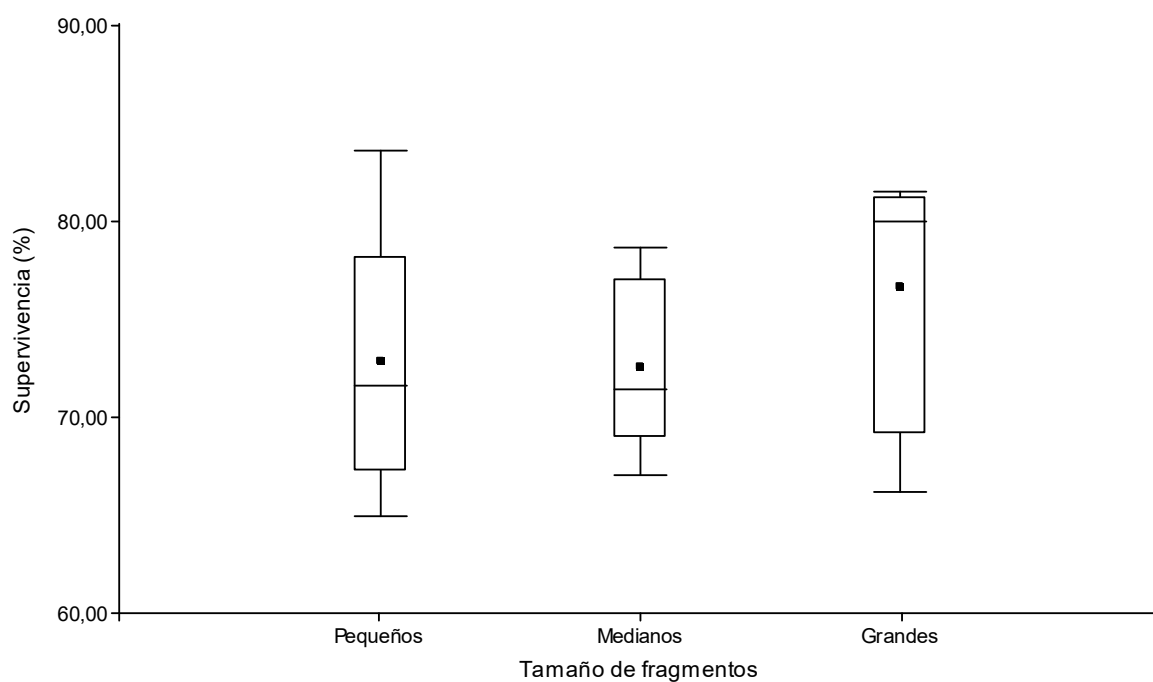


Figura 4.19. Supervivencia media de las especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque de diferente tamaño (ver sección Materiales y Métodos Generales). Se grafica la mediana, la media y los cuartiles 0,05; 0,25; 0,75 y 0,95.

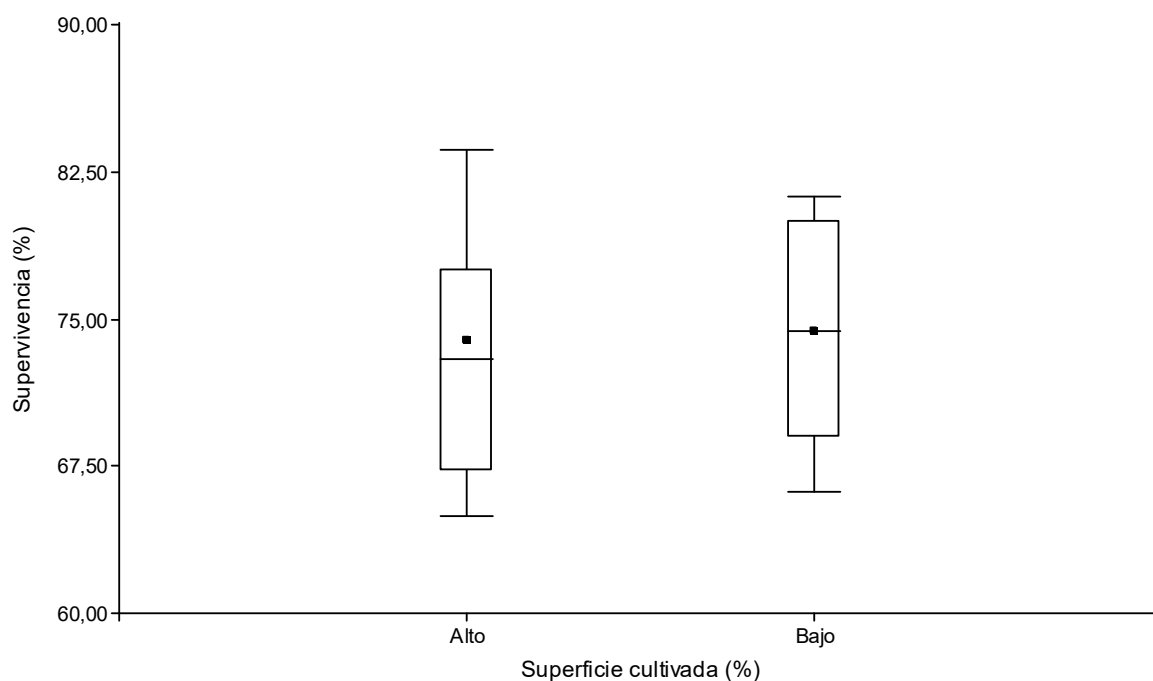


Figura 4.20. Supervivencia media de las especies de plantas vasculares registradas en fragmentos de bosque con diferente porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada relicto (ver sección Materiales y Métodos Generales). Se grafica la mediana, la media y los cuartiles 0,05; 0,25; 0,75 y 0,95.

Con respecto a la supervivencia de cada especie, se observó un valor máximo de supervivencia (100%) para 19 especies, de las cuales, 6 fueron especies arbóreas y arbustivas, y el resto especies herbáceas y subarbustivas. Sin embargo, vale la pena destacar, que algunas de estas especies se encontraron en solo un sitio de estudio (Tabla 4.5). Por otro lado, las especies que registraron los valores más bajos de supervivencia fueron *Baccharis ulicina*, *Sisyrinchium chilense*, *Convolvulus arvensis*, *Agrostis montevidensis*, *Phyllanthus niruri*, *Achyrocline satureioides*, *Trixis divaricata*, *Rhynchosia edulis*, *Nierembergia linariaefolia*, *Panicum bergii* y *Alternanthera pungens*, todas ellas con un valor de supervivencia promedio menor al 40% (Tabla 4.5). Sin embargo, los valores de supervivencia obtenidos para estas especies fueron muy variables entre los distintos sitios de estudio. Las especies leñosas *Acacia caven*, *Celtis ehrenbergiana*, *Porlieria microphylla* y *Aloysia gratissima*, además de ser muy comunes en los fragmentos de bosque estudiados, registraron valores muy altos de supervivencia (superiores al 60%). Por otro lado, las especies *Sida spinosa*, *Dicliptera squarrosa*, *Euphorbia acerensis*, *Janusia guaranitica*, *Malvastrum coromandelianum*, *Pseudabutilon virgatum* y *Salpichroa origanifolia*, si bien fueron especies muy comunes en los sitios de estudio y presentaron valores altos de densidad de individuos al considerar el total en los 20 sitios, presentaron valores muy diferentes de supervivencia y densidad de individuos, al analizar particularmente estas variables en cada uno de los sitios donde fueron registradas. Se observó que en algunos sitios estas especies fueron muy abundantes y presentaron una supervivencia superior al 80%, mientras que en otros sitios se encontraron solo unos pocos individuos.

Tabla 4.5. Supervivencia de plantas vasculares nativas registradas en los sitios de estudio. La tabla muestra el listado de especies nativas registradas y marcadas, a las cuales fue posible cuantificar su supervivencia luego de tres años (para el caso de las especies perennes), o al inicio y final de las temporadas de muestreo (para las especies anuales y bianuales). Los valores corresponden a la supervivencia promedio en fragmentos pequeños (FP), medianos (FM) y grandes (FG), considerando los 20 fragmentos de bosque estudiados y el valor de desvío estándar (DE) asociado; y a la supervivencia promedio en fragmentos con alto (APSC) y bajo (BPSC) porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante y su desvío estándar asociado (DE). Se muestra, además, el hábito de cada especie, y el número de sitios donde fue registrada cada una de ellas. Las celdas vacías corresponden a sitios donde no se encontraron, y por lo tanto, no se marcaron ejemplares de la correspondiente especie.

Especie	Hábito		Supervivencia	Supervivencia	Supervivencia	Supervivencia	Supervivencia	N° de sitios
			en FP±DE	en FM±DE	en FG±DE	en sitios con APSC ±DE	en sitios con BPSC ±DE	
<i>Acacia aroma</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	6
<i>Acacia atramentaria</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00		100,00 0,00	100,00 0,00	4
<i>Caesalpinia gilliesii.</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	5
<i>Cenchrus myosuroides</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	1
<i>Lycium cestroides</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	11
<i>Melica argyrea</i>	hierba	perenne			100,00 0,00		100,00 0,00	1
<i>Opuntia salmiana</i>	subarbusto	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	6
<i>Opuntia sulphurea</i>	subarbusto	perenne		100,00 0,00		100,00 0,00		2

<i>Passiflora mooreana</i>	liana	perenne	100,00 0,00			100,00 0,00		1
<i>Podocoma hirsuta</i>	hierba	perenne	100,00 0,00			100,00 0,00	100,00 0,00	5
<i>Prosopis alba</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	13
<i>Zanthoxylum coco</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	10
<i>Cuphea glutinosa</i>	hierba	perenne			100,00 0,00		100,00 0,00	2
<i>Acanthospermum hispidum</i>	hierba	anual			100,00 0,00		100,00 0,00	1
<i>Cheilantes buschetini</i>	hierba	perenne			100,00 0,00		100,00 0,00	1
<i>Gaillardia megapota mica</i>	hierba	perenne		100,00 0,00			100,00 0,00	1
<i>Condalia buxifolia</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	13
<i>Hypochaeris microcephala</i>	hierba	perenne		100,00 0,00		100,00 0,00		1
<i>Lithrea molleoides</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	95,00 5,80	100,00 0,00	100,00 0,00	98,60 3,80	11
<i>Acacia praecox</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	9,12 3,90	97,85 2,06	96,50 3,20	99,60 0,70	14
<i>Porlieria microphylla</i>	árbol	perenne	97,10 2,50	93,52 7,70	99,68 0,66	95,80 6,40	99,50 1,10	17
<i>Condalia microphylla</i>	árbol	perenne		100,00 0,00	90,90 9,28	100,00 0,00	93,50 8,20	12
<i>Ipomoea nil</i>	enredadera	anual	100,00 0,00		90,00 0,00	90,90 9,70	100,00 0,00	3
<i>Acacia caven</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	96,30 5,10	98,28 3,31	96,20 4,30	96,40 4,40	20

<i>Ipomoea rubriflora</i>	enredadera	anual	100,00 0,00	95,83 5,9		94,00 5,30	100,00 0,00	4
<i>Lippia turbinata</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00		91,67 11,79	100,00 0,00	98,60 3,80	8
<i>Passiflora suberosa</i>	liana	perenne	100,00 0,00	94,44 1,2	90,91 12,86	95,50 1,15	90,33 0,20	5
<i>Celtis ehrenbergiana</i>	árbol	perenne	92,07 4,9	95,18 1,4	95,66 4,25	93,50 3,80	96,60 3,90	18
<i>Aspidosperma quebracho-blanc.</i>	árbol	perenne	95,33 7,7	94,34 6,00	97,37 5,26	92,80 6,90	95,90 5,10	15
<i>Geoffroea decorticans</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	89,27 5,6	98,08 10,84	93,30 6,00	94,00 10,30	17
<i>Paspalum malacophyllum</i>	hierba	perenne	66,67 2,00		99,34 2,45	100,00 0,00	90,00 15,70	6
<i>Solanum argentinum</i>	arbusto	perenne	88,65 3,40	90,19 6,60	93,64 5,24	94,30 4,70	91,70 7,30	16
<i>Jarava ichu</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	90,00 2,55	100,00 0,00	91,80 12,00	95,40 9,20	12
<i>Schinus fasciculatus</i>	árbol	perenne	87,50 11,90	94,12 12,20	98,18 8,27	90,50 10,90	96,70 8,20	15
<i>Lycium ciliatum</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	91,67 9,00	93,16 8,73	95,20 7,00	85,90 4,40	10
<i>Senecio vira-vira</i>	subarbusto	perenne	92,31 3,02				92,30 0,00	1
<i>Tillandsia rectangula</i>	hierba	perenne			92,23 0,25	92,20 0,00		1
<i>Borreria densiflora</i>	hierba	perenne			91,67 11,79		91,70 11,80	2
<i>Rorippa bonariensis</i>	hierba	anual			83,33 11,79		91,70 11,80	2
<i>Tillandsia retorta</i>	hierba	perenne			75,00 17,68	87,50 17,70	100,00 0,00	3

<i>Schkuria pinnata</i>	hierba	anual		87,58 5,01	100,00 0,00		91,70 11,80	2
<i>Porophyllum ruderale</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	82,55 12,11		100,00 0,00	66,70 0,00	4
<i>Amphilophium carolinae</i>	liana	perenne	91,21 5,90	92,68 6,70	85,71 10,28	92,50 5,80	89,80 10,30	18
<i>Ipomoea purpurea</i>	enredadera	anual	93,30 6,50	75,96 12,40	96,18 5,24	90,90 9,70	92,80 8,80	16
<i>Setaria pampeana</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	82,87 15,00	100,00 0,00	96,60 4,70	71,00 18,90	10
<i>Cestrum parqui</i>	arbusto	perenne	93,23 2,2	86,60 6,20	95,26 8,33	91,00 5,60	91,90 7,60	18
<i>Schinus areira</i>	árbol	perenne	100,00 0,00	75,00 24,30	94,12 6,79	93,30 11,70	87,50 25,00	10
<i>Lepechinia floribunda</i>	subarbusto	perenne	92,86 13,70	77,78 12,80	89,31,9,39	90,90 12,90	90,90 9,30	12
<i>Cologania ovalifolia</i>	enredadera	perenne		100,00 0,00	84,55 3,22	90,00 14,10	66,50 57,50	5
<i>Setaria hunzikeri</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	80,00 0,00	85,00 0,00	98,80 2,10	66,70 0,00	4
<i>Setaria vaginata</i>	hierba	perenne	93,48 5,50	82,35 11,80	93,75 8,07	89,90 10,30	94,40 7,20	19
<i>Tillandsia capillaris</i>	hierba	perenne	93,82 4,40	88,56 11,70	89,89 5,41	89,30 10,40	92,00 3,90	18
<i>Fleischmannia prasiifolia</i>	subarbusto	perenne	92,26 11,60	89,47 11,00	95,14 11,81	90,60 9,50	88,10 12,70	15
<i>Setaria lachnea</i>	hierba	perenne	90,00 10,00	80,00 15,1	93,52 12,96	90,00 9,30	86,70 23,10	12
<i>Capsicum chacöense</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	70,00 0,00		83,30 23,60	100,00 0,00	3
<i>Prosopis flexuosa</i>	árbol	perenne		65,00 0,00	100,00 0,00	100,00 0,00	76,90 0,00	2

<i>Tagetes minuta</i>	hierba	anual		76,92 3,21	90,00 0,00	100,00 0,00	75,00 0,00	2
<i>Solanum elaeagnifolium</i>	arbusto	perenne		90,00 10,00	100,00 0,00	83,90 9,90	92,60 10,50	4
<i>Iresine diffusa</i>	subarbusto	perenne	95,89 13,30	83,89 11,60	88,95 7,09	86,90 11,60	90,30 8,30	20
<i>Cyperus aggregatus</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	86,56 6,30	93,48 18,77	85,60 19,10	88,70 19,40	8
<i>Chromolaena hookeriana</i>	arbusto	perenne	85,61 3,70	90,01 9,90	87,21 5,65	87,70 7,60	88,10 6,70	18
<i>Colletia spinosissima</i>	arbusto	perenne			76,92, 11,94	83,30 23,60	90,20 11,90	5
<i>Bromus sp.</i>	hierba	anual			96,15 4,64	96,20 0,00	84,30 21,90	4
<i>Cyperus hermaphroditus</i>	hierba	perenne	90,91 5,20		98,28 32,51	99,00 1,90	80,70 31,90	14
<i>Setaria parviflora</i>	hierba	perenne	91,67 9,60	73,10 18,30	86,21 5,33	92,20 7,70	84,60 21,50	9
<i>Morrenia brachystephana</i>	enredadera	perenne	71,43 7,4	100,00 0,00	100,00 0,00	83,00 12,80	100,00 0,00	5
<i>Passiflora morifolia</i>	liana	perenne	87,71 9,30	81,57 8,00	94,01 21,12	90,90 7,80	78,90 17,00	16
<i>Lantana grisebachii</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	83,33 18,40	92,36 14,10	83,40 15,00	87,80 16,60	12
<i>Vernonanthura nudiflora</i>	subarbusto	perenne		100,00 0,00	71,43 8,43		85,60 11,80	4
<i>Chromolaena squarroso-ramosum</i>	subarbusto	perenne		60,00 25,60	100,00 0,00	85,40 22,10		3
<i>Setaria oblongata</i>	hierba	perenne	66,67 8,70	80,00 28,30	90,91 5,25	83,30 23,60	86,00 16,90	7
<i>Eupatorium viscidum</i>	subarbusto	perenne	78,85 10,50	78,49 12,60	88,33 6,91	80,10 10,20	90,60 6,80	15

<i>Morrenia odorata</i>	enredadera	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	86,00 21,91	84,30 27,00	86,00 21,90	12
<i>Austroeupatorium inulifolium</i>	arbusto	perenne		67,25 2,45	100,00 0,00	79,20 26,00	100,00 0,00	4
<i>Janusia guaranitica</i>	enredadera	perenne	100,00 0,00	69,29 35,20	91,67 11,08	78,10 29,00	95,80 10,20	17
<i>Cynanchum bonariense</i>	enredadera	perenne	100,00 0,00	100,00 0,00	82,50 23,63	80,40 24,90	93,30 11,50	10
<i>Dichondra microcalyx</i>	hierba	perenne	100,00 0,00	81,97 5,50	88,97 13,43	86,20 10,60	81,20 15,50	14
<i>Croton serratifolius</i>	arbusto	perenne	72,81 8,70		96,30 1,80	80,60 14,90	93,80 0,00	4
<i>Gouinia latifolia</i>	hierba	perenne	50,00 42,00	86,75 8,90	90,31 4,14	81,00 30,80	88,60 8,50	14
<i>Bouteloua curtipendula</i>	hierba	perenne	90,00 11,8	80,00 16,50	95,62 16,82	88,80 13,10	80,00 16,30	10
<i>Berberis ruscifolia</i>	arbusto	perenne	66,67 11,80	86,26 14,40	87,42 3,64	87,20 16,40	75,70 22,50	9
<i>Aristolochia argentina</i>	enredadera	perenne		65,00 2,50	100,00 0,00	83,30 28,90		3
<i>Ephedra triandra</i>	arbusto	perenne	88,89 19,20	50,00 44,70	100,00 0,00	93,80 17,70	66,70 40,80	13
<i>Condalia montana</i>	árbol	perenne	51,60 33,33	100,00 0,00	90,90 9,28	73,70 45,60	95,40 8,60	14
<i>Mandevilla pentlandiana</i>	enredadera	perenne	92,86 46,30	83,33 14,20	94,21 10,84	89,60 7,80	75,00 35,70	14
<i>Sida rhombifolia</i>	subarbusto	anual	85,20 19,50	68,42 13,20	89,72 7,06	84,00 11,70	79,20 19,60	19
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	liana	anual	38,50 33,30	81,82 25,70	96,15 20,64	78,60 29,60	100,00 0,00	6
<i>Anredera cordifolia</i>	enredadera	perenne	82,70 5,60	87,75 11,60	76,66 17,50	78,60 15,10	85,40 6,90	20

<i>Gomphrena pulchella</i>	hierba	perenne		85,41 1,10	66,67 47,14	88,50 7,70	66,70 47,10	6
<i>Lepidium bonariense</i>	hierba	anual	93,33 10,20	64,52 25,10	73,92 23,82	85,10 18,40	78,50 24,10	9
<i>Rivina humilis</i>	hierba	perenne	81,87 9,20	76,17 8,00	80,66 12,01	83,50 8,00	76,90 10,50	18
<i>Sida dictyocarpa</i>	subarbusto	perenne	86,21 25,40	69,79 11,20	88,08 8,66	75,60 17,60	87,90 14,80	18
<i>Coursetia hassleri</i>	arbusto	perenne	94,55 3,70	80,00 0,00	83,12 6,74	76,00 38,20	87,50 3,60	9
<i>Dichondra sericea</i>	hierba	perenne		70,00 10,00	93,75 7,75	65,50 36,00	88,90 7,80	5
<i>Cestrum lorentzianum</i>	arbusto	perenne			79,17 5,89		79,20 5,90	2
<i>Galinsoga parviflora</i>	hierba	anual	86,67 0,20	72,20 5,00		100,00 0,00	71,10 13,90	4
<i>Parthenium hysterophorus</i>	hierba	anual	50,00 11,80	80,00 14,10	96,15 14,96	90,00 14,10	72,00 19,20	6
<i>Solanum stuckertii</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	66,67 5,09	100,00 0,00	75,00 50,00	83,30 23,60	6
<i>Setaria</i> sp.	hierba	perenne		90,91 0,15	70,94 16,86	82,20 12,30	75,40 23,20	6
<i>Dolichandra cynanchoides</i>	liana	perenne		70,70 4,80	93,51 3,76	58,30 52,00	92,20 3,80	7
<i>Prosopis nigra</i>	árbol	perenne	80,00 26,60	86,84 13,20	100,00 0,00	79,10 36,50	66,70 0,00	8
<i>Mandevilla laxa</i>	enredadera	perenne	75,00 23,00		100,00 0,00	64,60 44,30	94,40 9,60	7
<i>Croton lachnostachyus</i>	arbusto	perenne	67,86 17,70	69,52 8,30	71,43 10,98	73,60 10,60	80,70 13,20	10
<i>Lantana balansae</i>	arbusto	perenne		72,22 34,10	87,50 14,43	70,60 33,80	91,70 14,40	10

<i>Anemia tomentosa</i>	hierba	perenne			72,38 5,22		76,50 5,20	4
<i>Clematis montevidensis</i>	liana	perenne	38,46 40,70	92,86 10,10	74,55 4,11	79,30 33,50	72,90 36,80	15
<i>Stenandrium dulce</i>	hierba	perenne			75,00 35,36	64,10 19,90	100,00 0,00	3
<i>Pascalina glauca</i>	hierba	perenne	83,33 2,40		80,00 0,00	75,80 10,70		4
<i>Commelina erecta</i>	hierba	anual	75,00 0,00	85,22 6,45	100,00 0,00		50,00 40,70	16
<i>Cleome aculeata</i>	hierba	perenne	80,50 10,00	75,00 5,00	75,00 0,00	72,50 21,50	81,30 26,50	6
<i>Tillandsia aizoides</i>	hierba	perenne	86,67 17,50	87,61 44,40	61,11 35,53	79,00 32,50	63,20 55,00	12
<i>Eryngium horridum</i>	hierba	perenne			75,00 0,00		75,00 0,00	1
<i>Solanum nigrescens</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00		50,00 0,00		75,00 35,40	2
<i>Heliotropium</i> sp.	arbusto	perenne			75,00 0,00		75,00 0,00	1
<i>Piptochaetium montevidense</i>	hierba	perenne			75,00 0,00		75,00 0,00	1
<i>Cyclospermum leptophyllum</i>	hierba	anual		75,00 35,36		75,00 35,40		2
<i>Silene antirrhina</i>	hierba	anual			60,25 22,41	80,00 28,30	62,50 0,00	3
<i>Eragrostis aff. virescens</i>	hierba	perenne		60,00 8,10	90,2 12,10	73,20 2,50	75,10 21,40	4
<i>Ipomoea cairica</i>	enredadera	perenne			62,50 16,41		62,50 16,41	2
<i>Cordobia argentea</i>	enredadera	perenne	78,73 7,00	49,26 34,30	84,25 18,19	70,60 32,00	77,20 15,50	8

<i>Aloysia gratissima</i>	arbusto	perenne	63,54 21,00	70,53 13,60	78,43 11,27	76,40 16,70	70,10 11,10	20
<i>Ophryosporus axilliflorus</i>	arbusto	perenne	50,30 8,00		100,00 0,00	77,10 20,60	70,80 47,90	7
<i>Nassella hyalina</i>	hierba	perenne		58,33 16,50	88,01 16,43	58,90 51,20	74,30 20,10	9
<i>Eupatorium catarium</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	50,00 5,50		70,80 26,00	80,00 0,00	4
<i>Solanum chenopodioides</i>	hierba	anual	73,21 25,10	76,97 10,60		69,60 21,50	82,70 12,30	10
<i>Heimia salicifolia</i>	arbusto	perenne	100,00 0,00	81,08 23,20	66,11 8,64	74,40 22,40	66,10 8,60	8
<i>Cantinoa mutabilis</i>	hierba	perenne		55,56 38,80	84,18 18,67	63,40 36,80	81,10 18,50	12
<i>Ambrosia tenuifolia</i>	hierba	perenne			60,00 22,25	37,50 0,00	83,80 21,10	4
<i>Pavonia argentina</i>	arbusto	perenne		66,67 7,58	50,00 35,36	66,70 0,00	75,00 35,40	3
<i>Dysphania ambrosioides</i>	hierba	perenne	68,29 8,90	60,00 16,50		71,50 11,90	74,10 0,00	5
<i>Cyperus incomtus</i>	hierba	perenne	66,70 6,30	75,56 18,60	89,84 27,80	75,90 36,20	65,50 25,00	12
<i>Plantago tomentosa</i>	hierba	perenne			80,00 30,43	65,70 8,10	74,70 36,20	5
<i>Lippia junelliana</i>	arbusto	perenne		100,00 0,00	70,71 11,84	91,70 11,80	50,00 40,70	4
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	subarbusto	perenne	82,17 17,20	85,52 9,30	85,81 36,98	77,00 13,30	62,40 33,10	19
<i>Rhynchosia senna</i>	hierba	perenne	81,52 13,10	89,72 0,84	55,00 0,00	57,10 49,60	88,90 15,70	5
<i>Heterosperma ovatifolium</i>	hierba	anual	84,38 31,30	50,50 5,10	77,29 36,35	59,80 48,40	77,70 35,10	13

<i>Malvastrum interruptum</i>	subarbusto	perenne	58,90 10,00	50,00 21,30	100,00 0,00	65,80 40,90	72,20 29,70	11
<i>Abutilon grandifolium</i>	subarbusto	perenne	75,00 26,50	93,33 20,00	74,76 16,81	69,00 19,00	74,70 19,90	13
<i>Philibertia gilliesii</i>	enredadera	perenne	80,00 23,10	66,67 34,70	44,44 50,92	57,20 38,90	77,80 38,50	9
<i>Solanum chacoense</i>	hierba	perenne	66,67 47,70	75,00 17,70	37,50 40,18	62,40 38,20	54,20 50,50	12
<i>Nassella neesiana</i>	hierba	perenne		58,90 10,00	75,56 21,87	58,90 51,20	74,30 20,10	8
<i>Gaya parviflora</i>	hierba	perenne		70,50 13,50	58,19 17,28	75,00 35,40	62,80 17,30	5
<i>Pseudabutilon virgatum</i>	subarbusto	perenne	44,44 43,60	77,82 33,00	78,03 15,24	57,90 40,80	76,90 14,00	18
<i>Dicliptera squarrosa</i>	hierba	perenne	81,80 14,00	72,35 12,40	59,51 33,88	71,20 15,40	60,30 36,60	17
<i>Digitaria ciliaris</i>	hierba	anual		50,00 50,00	80,00 15,00	58,60 44,30	100,00 0,00	5
<i>Eupatorium subhastatum</i>	subarbusto	perenne		85,00 10,00	100,00 0,00		90,00 10,00	3
<i>Passiflora caerulea</i>	liana	perenne		75,00 15,00	65,00 2,55	66,70 47,10	66,70 57,70	7
<i>Baccharis glutinosa</i>	arbusto	perenne	90,91 7,70	57,14 39,50	100,00 0,00	66,70 45,60	57,10 0,00	5
<i>Plantago major</i>	hierba	perenne		100,00 0,00	45,61 47,21	50,00 30,70	78,90 17,40	4
<i>Modiolastrum malvifolium</i>	hierba	perenne		70,70 19,40	50,00 27,89	61,00 44,20	67,90 27,90	7
<i>Solanum palinacanthum</i>	arbusto	perenne	50,00 25,00	54,40 2,10	63,10 46,94	27,30 47,30	89,30 9,50	7
<i>Jarava plumosa</i>	hierba	perenne		80,00 0,00	100,00 0,00	25,00 35,40	100,00 0,00	4

<i>Exhalimolobos weddellii</i>	hierba	anual	55,56 38,90	72,96 10,70	83,56 42,33	66,20 28,90	55,70 33,00	13
<i>Krapovickasia flavescens</i>	hierba	perenne		60,00 10,00	48,08 56,66	56,70 33,00	65,40 56,70	5
<i>Ruprechtia apetala</i>	árbol	perenne	33,33 10,00	80,00 21,20	62,50 25,98	54,40 23,60	67,00 26,00	7
<i>Pavonia revoluta</i>	arbusto	perenne		50,00 0,00	96,30 5,24	75,00 35,40	46,30 65,50	4
<i>Zinnia peruviana</i>	hierba	anual		33,50 5,00	83,33 8,42	20,00 0,00	74,00 8,30	4
<i>Melica macra</i>	hierba	perenne		70,70 22,00	100,00 0,00	33,30 57,70	100,00 0,00	5
<i>Jodina rhombifolia</i>	árbol	perenne	81,25 26,50	83,33 25,00	50,00 35,36	46,50 39,70	100,00 0,00	8
<i>Sida spinosa L.</i>	subarbusto	perenne	50,00 39,60	60,50 12,50	44,44 44,72	58,80 33,50	60,80 47,90	14
<i>Mollugo verticillata</i>	hierba	anual	50,00 20,50	50,00 0,00		59,60 16,70		3
<i>Salpichroa origanifolia</i>	hierba	perenne	73,93 15,40	60,50 37,30	72,38 40,21	65,40 26,50	51,30 48,70	17
<i>Euphorbia acerensis</i>	hierba	perenne	90,00 37,60	36,67 35,50	75,47 31,43	59,70 38,30	62,00 31,20	20
<i>Piptochaetium sp.</i>	hierba	perenne	50,00 0,00	60,00 0,00	77,47 39,19	68,00 11,30	54,70 37,60	6
<i>Paspalum notatum</i>	hierba	perenne		55,00 15,00	58,09 47,39	50,50 25,00	63,60 43,80	6
<i>Solanum sisymbriifolium</i>	hierba	perenne		58,08 50,44		87,10 5,40		3
<i>Conyza lorentzii</i>	hierba	anual	70,70 6,20	50,00 0,00	50,00 44,75	50,00 44,70	81,70 2,40	8
<i>Acalypha communis</i>	hierba	perenne		47,10 5,90	83,60 15,05	41,70 22,00	65,10 34,60	9

<i>Abutilon pauciflorum</i>	arbusto	perenne		50,50 10,00	90,00 0,00	35,70 50,50	100,00 0,00	3
<i>Daucus pusillus</i>	hierba	anual			55,86 51,02		55,90 51,00	3
<i>Trichloris pluriflora</i>	hierba	perenne		80,65 5,30	50,00 44,10	65,1034,80		7
<i>Pfaffia gnaphliodes</i>	hierba	perenne	50,00 0,00	41,20 5,30	100,00 0,00	57,10 51,50	53,30 50,30	6
<i>Solidago chilensis</i>	hierba	perenne	60,00 28,30	71,43 42,30	50,00 23,57	47,50 40,50	77,40 8,40	8
<i>Bidens pilosa</i>	hierba	anual	33,63 24,00	35,42 20,10	79,80 16,03	47,80 22,60	62,50 35,70	18
<i>Desmodium uncinatum</i>	hierba	perenne	40,00 0,00	70,42 14,40	45,92 5,00	45,00 7,10	56,90 38,60	6
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	subarbusto	perenne	49,10 10,00	55,00 0,00	50,71 15,00	52,80 45,70	50,70 15,00	5
<i>Paspalum unispicatum</i>	hierba	perenne	80,00 0,00	50,00 0,00		50,00 25,00		2
<i>Tragia melochoides</i>	subarbusto	perenne	66,67 28,30	50,00 0,00		83,30 0,00	33,30 47,10	3
<i>Verbena litoralis</i>	hierba	perenne		45,00 20,00	100,00 0,00	50,00 0,00	50,00 50,00	4
<i>Blechnum australe</i>	hierba	perenne			50,00 50,00		75,00 35,40	3
<i>Baccharis rufescens</i>	arbusto	perenne			60,00 0,00		60,00 0,00	1
<i>Oxalis conorrhiza</i>	hierba	perenne	50,00 0,00	48,10 10,00	53,85 16,32	41,70 48,10	60,30 14,60	7
<i>Chaptalia nutans</i>	hierba	perenne	35,71 39,4	44,83 15,00	43,47 26,01	56,60 24,20	36,80 26,90	19
<i>Tragia geraniifolia</i>	hierba	perenne	28,30 5,00	70,7 10,00	80,00 3,54	46,70 50,30	51,70 44,80	6

<i>Tragia volubilis</i>	hierba	perenne		66,70 5,00	50,00 44,10	97,20 4,00		4
<i>Baccharis coridifolia.</i>	arbusto	perenne		45,00 10,50	60,00 6,06		48,50 32,70	4
<i>Pavonia aurigloba</i>	arbusto	perenne			66,67 6,93		66,67 6,93	3
<i>Parietaria debilis</i>	hierba	anual	100,00 0,00	47,10 10,00	75,00 16,67	29,20 39,40	72,20 25,50	7
<i>Galium richardianum</i>	hierba	anual	33,70 15,50	64,52 19,80	53,89 34,75	36,70 36,00	61,40 15,30	12
<i>Bothriochloa sp.</i>	hierba	perenne	70,00 0,00	32,10 15,00	60,00 14,14	45,00 31,10	50,00 14,10	6
<i>Senecio pampeanus</i>	hierba	perenne		45,00 15,00	40,00 4,01		57,80 40,00	5
<i>Bidens subalternans</i>	hierba	anual	22,32 28,20	26,35 29,40	63,32 34,42	51,30 25,00	38,70 39,60	19
<i>Conyza bonariensis</i>	hierba	anual	78,57 10,00	70,70 5,00	25,00 35,00	50,00 20,00	42,90 39,80	5
<i>Chiropetalum griseum</i>	subarbusto	perenne	50,00 10,00	40,25 12,00	45,00 10,00	47,80 36,60	40,60 49,30	12
<i>Galium latoramosum</i>	hierba	perenne	88,24 13,00	38,00 23,11	57,00 19,19	36,90 35,30	59,10 20,60	11
<i>Chiropetalum argentinense</i>	subarbusto	perenne	40,0 0,00	51,25 3,18	60,20 10,00	41,70 11,80	46,40 41,40	6
<i>Modiolastrum gilliesii</i>	hierba	perenne		23,60 0,20	50,00 50,92	50,00 43,00	33,30 47,10	6
<i>Bromus catharticus</i>	hierba	indefinido		40,00 0,00			40,00 0,00	1
<i>Amelichloa brachychaeta</i>	hierba	perenne		40,00 0,00	45,00 0,00	40,00 0,00	45,00 5,00	3
<i>Simsia dombeyana</i>	hierba	anual		40,00 0,00		40,00 0,00		1

<i>Baccharis ulicina</i>	subarbusto	perenne	30,00 0,00	32,10 0,50	47,14 32,52	37,10 32,60	42,20 36,70	6
<i>Sisyrinchium chilense</i>	hierba	perenne		38,46 54,39		38,46 54,39		2
<i>Convolvulus arvensis</i>	enredadera	perenne	63,76 16,70	29,10 16,67	50,10 30,10			8
<i>Agrostis montevidensis</i>	hierba	perenne	40,00 0,00	50,00 0,00	45,00 0,00		52,50 38,90	3
<i>Phyllanthus ramillosus</i>	hierba	anual	30,00 0,00	30,00 0,00	40,00 0,00		38,66 25,10	3
<i>Achyrocline satureioides</i>	subarbusto	perenne			33,33 5,00		33,33 5,00	2
<i>Rhynchosia edulis</i>	enredadera	perenne	30,00 2,00	42,40 5,21	57,74 4,28	30,00 42,40	33,30 57,70	5
<i>Nierembergia linariaefolia</i>	hierba	perenne		25,00 0,00		25,00 0,00		1
<i>Panicum bergii</i>	hierba	perenne		20,00 0,00	25,00 0,00		27,33 5,22	2
<i>Alternanthera pungens</i>	hierba	perenne	20,00 0,00	20,00 0,00	30,00 0,00	16,70 23,60	40,00 0,00	3

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este Capítulo permitieron llevar a cabo una caracterización de la diversidad de especies de plantas vasculares (nativas y no nativas) en fragmentos de Bosque Chaqueño y evaluar la supervivencia de las especies nativas en los sitios estudiados. Esta caracterización de cada sitio permitió luego establecer comparaciones entre la diversidad y supervivencia de: a) sitios con diferente grado de exposición a herbicidas (según su tamaño) y b) sitios con mayor o menor porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante.

Existen antecedentes de trabajos previos, llevados a cabo dentro de la misma región, donde se estudió la composición florística del Bosque Chaqueño Serrano de la Provincia de Córdoba y donde se reporta una alta abundancia de muchas de las especies de plantas nativas registradas en el presente trabajo de Tesis (Giorgis et al., 2011). Las familias más numerosas que fueron registradas en el área de estudio de la presente Tesis fueron Poaceae, Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Euphorbiaceae y Solanaceae. Vale la pena destacar que las tres primeras familias, coinciden con las mencionadas como las más numerosas para la Provincia de Córdoba (Giorgis et al., 2011; Zuloaga et al., 1999).

En el centro de nuestro país, la creciente actividad agropecuaria ha promovido un continuo y acelerado proceso de fragmentación y pérdida de bosque, que ha tenido un importante impacto sobre los ecosistemas de la región Chaqueña, con importantes consecuencias en la biodiversidad (Cáceres, 2015; Torrella y Adámoli, 2006; Zak et al., 2008). A partir de los resultados obtenidos en este Capítulo, se pudo evidenciar una relación significativa entre el nivel de fragmentación y la diversidad de especies de plantas vasculares registradas en los sitios estudiados. En particular, se observó que los fragmentos de Bosque Chaqueño de mayor tamaño presentaron una mayor diversidad de especies de plantas vasculares. A su vez, no se evidenció ninguna relación estadísticamente significativa entre la diversidad de plantas registradas y la superficie cultivada alrededor de los fragmentos de bosque.

Por otro lado, al analizar en particular los resultados de densidad de especies vegetales, se observó una relación positiva y significativa entre la densidad de especies de plantas vasculares y el tamaño de los fragmentos de bosque estudiados. Así mismo, también se observó que los sitios que se encontraban en paisajes con un mayor porcentaje de

superficie cultivada, presentan una densidad de especies vasculares (incluyendo especies nativas y no nativas) significativamente menor, respecto a los fragmentos de bosques rodeados por un bajo porcentaje de tierras cultivadas. También, se puede apreciar que la mayoría de las especies registradas, presentaron una densidad relativa intermedia, habiendo tan solo unas pocas especies dominantes. Respecto a la composición de especies en las comunidades naturales de los sitios estudiados, se pudo observar gráficamente que los fragmentos pequeños presentaron una composición de especies diferente a la de los fragmentos grandes.

Por lo tanto, es interesante destacar que, partir de los análisis realizados, fue posible evidenciar que tanto la diversidad, como la composición de especies de las comunidades vegetales estudiadas podrían estar siendo influenciadas por el proceso de fragmentación del bosque nativo. Esto podría ser explicado, por ejemplo, por el hecho de que las matrices agrícolas alterarían drásticamente las condiciones microclimáticas de los fragmentos de bosque a los que rodean, provocando un aumento de la insolación, la intensidad lumínica, la evaporación y consiguiente sequedad del suelo, de la exposición al viento y a muy diversos agentes contaminantes que llegan por el suelo o el aire (Saunders et al., 1991). Estos efectos generarían una pérdida de las condiciones homeostáticas propias del interior de los bosques, y por lo tanto, en fragmentos muy pequeños, bajo un determinado umbral de tamaño, estos efectos modificarán las condiciones ambientales de todo el bosque, afectando a todos aquellos organismos que requieran el mantenimiento de condiciones forestales más o menos estrictas (Santos y Tellería, 2006). Diversos estudios sobre la flora y la fauna remanente en los sistemas agropecuarios han evidenciado la capacidad de la biota nativa para utilizar ambientes modificados por el hombre y mantenerse a través del tiempo (Sekercioglu et al., 2007; Tobar et al., 2007; Vandemeer y Perfecto, 2007; Vélchez et al., 2004). Aunque actualmente no es posible confirmar la existencia de una relación causal entre la fragmentación del bosque y los patrones observados de densidad, diversidad de especies de plantas, y cambios en la composición de especies, la interpretación de los resultados obtenidos sugiere que el tamaño del fragmento donde viven las especies nativas sería un factor importante que contribuye a explicar los patrones observados. Dado que hipotetizamos que los fragmentos pequeños tendrán una mayor exposición a los herbicidas utilizados en la matriz de cultivo, la deriva de los productos agroquímicos podría constituir también, otro factor fundamental que afecta los patrones de diversidad

y supervivencia que observamos en los fragmentos de bosque de diferente tamaño. Las diferencias en la respuesta entre las especies a la deriva de herbicidas (en dosis subletales), se ha probado que pueden conducir a cambios en la composición de la comunidad vegetal (Marrs et al., 1991b; Marrs y Frost, 1997; Pitcairn et al., 1998, 2003; Pywell et al., 1996) a través de cambios en las tasas de crecimiento y la competencia por los recursos, o a través de los impactos diferenciales sobre la fecundidad y el conjunto de semillas (Gove et al., 2007). Por lo tanto, incluso si los impactos directos son negativos, las especies menos sensibles pueden beneficiarse indirectamente a medida que se suprimen los competidores sensibles (Pywell et al., 1996), lo que conduce a una reducción de la diversidad de comunidades de plantas en los bosques nativos (Gove et al., 2007).

Por otro lado, al analizar los valores de supervivencia por sitio, considerando el total de especies de plantas nativas registradas, se obtuvieron valores altos de dicha variable, con un promedio de supervivencia del 75 %. Sin embargo, cuando se analizaron las posibles relaciones entre esta variable, el tamaño de los fragmentos y la superficie cultivada en el paisaje, no se evidenciaron relaciones significativas en ninguno de los casos. En trabajos previos se ha encontrado que la supervivencia de las especies en ambientes fragmentados puede estar condicionada por atributos biológicos de las especies que les confieren particular vulnerabilidad a la fragmentación de su hábitat (Haila, 2002; Kemper et al., 1999). Entre esos atributos, algunos trabajos han evaluado la susceptibilidad de diferentes grupos de organismos a herbicidas tales como el glifosato, observando diferentes niveles de daño según las especies (Guiseppe et al., 2006). Se ha visto que muchas plantas se ven afectadas ante la exposición a estas sustancias (Sullivan y Sullivan, 2003), existiendo, en algunos casos, una disminución en la diversidad y la supervivencia de especies bajo la influencia de herbicidas (Sullivan et al., 1996). Además, dado que la vegetación está mucho más expuesta al contacto con herbicidas en las áreas de borde de los fragmentos (De Snoo y Van der Poll, 1999; Roy et al., 2003), la susceptibilidad de las especies a estas sustancias puede determinar, en cierta medida, las diferencias en la diversidad, la composición y la supervivencia de las especies en los remanentes de bosque con diferente grado de exposición a los herbicidas.

De esta manera, los efectos de los herbicidas parecen constituir otro factor estresante que afecta a las interacciones entre plantas, sumado a otros factores, como las modificaciones del uso de la tierra en la escala del paisaje (Kremmen et al., 2007) que están afectando cada vez más a los agroecosistemas (Boutin et al., 2014). Las aplicaciones continuas de productos agroquímicos en la región provocarían cambios en la comunidad de plantas nativas y

probablemente conducirían a largo plazo, a la desaparición de las especies más afectadas. De esta manera, los impactos más importantes de los herbicidas son, sin duda, los efectos letales sobre las plantas, modificando la composición y la diversidad de las especies. Sin embargo, numerosos antecedentes describen los efectos de las dosis menores a la habitual utilizada en el campo sobre especies de plantas nativas (Gove, 2007; Kleijn y Snoeijs, 1997; Marrs, 1989), indicando que las dosis subletales resultantes de la deriva de los productos agroquímicos, producirían el deterioro de la vegetación de los fragmentos de bosques en los agroecosistemas, mediante la modificación del desarrollo, el crecimiento y la morfología de las plantas (Boutin, 1999). En otras regiones biogeográficas, diversos estudios describen efectos letales y subletales inmediatos de los agroquímicos en plantas no-blanco. Por ejemplo, reducción de la biomasa (Gove et al., 2007), supresión de la floración (Martin, 2011), reducción en la producción de semillas (Boutin et al., 2000; Fletcher et al., 1996; Kjaer et al., 2006; Schmitz et al., 2013) o fitotoxicidad (Schmitz et al., 2014). Además, estos efectos pueden acumularse y potenciarse en el largo plazo (Marshall y Breeze, 1999) considerando que las áreas naturales incluidas dentro de explotaciones agrícolas intensivas están sometidas a dosis bajas, pero frecuentes, de la deriva de herbicidas (Marshall, 2001). La reducción de las poblaciones de las especies más sensibles puede ser aún más rápida y mayor cuando se suman otros factores de estrés (por ejemplo: herbívoros, condiciones meteorológicas extremas) que afectan la recuperación y la reproducción de las plantas (Carpenter y Boutin, 2010). De esta manera, las diferencias entre las especies en las respuestas a la deriva de herbicidas pueden modificar la diversidad y la composición de la comunidad vegetal (Marrs y Frost, 1997; Marrs et al., 1991b; Pitcairn et al., 1998, 2003; Pywell et al., 1996) a través de cambios en las interacciones biológicas, la fecundidad o la producción de semillas (Ball, 1992; Gove et al., 2007; Roberts y Neilson, 1981).

APÉNDICE I. Especies de plantas vasculares registradas en los muestreos realizados en la presente Tesis, en los 20 fragmentos de Bosque Chaqueño estudiados.

Para cada especie se muestra el status (N= nativa; NN= no nativa, ver sección Materiales y Métodos), la familia botánica a la cual pertenece, la densidad total de individuos registrados en los 20 fragmentos, la densidad de individuos registrados en cada categoría de tamaño de fragmento (pequeños: FP, medianos: FM, y grandes: FG), el número total de sitios en los que fueron registradas, y el número de sitios de cada categoría de tamaño de fragmento en las que estuvieron presentes.

Especie	Status	Familia	Densidad de individuos	Nº de sitios	Nº de sitios de FP	Nº de sitios de FM	Nº de sitios de FG	Densidad de individuos en FP	Densidad de individuos en FM	Densidad de individuos en FG
<i>Abutilon grandifolium</i> (Willd.) Sweet	N	Malvaceae	137	14	3	5	6	3	60	74
<i>Abutilon pauciflorum</i> A. St.-Hil.	N	Malvaceae	3	2	0	1	1	0	1	2
<i>Acacia aroma</i> Gillies ex Hook. & Arn.	N	Fabaceae	25	6	0	4	2	0	14	11
<i>Acacia atramentaria</i> Benth.	N	Fabaceae	18	4	2	2	0	2	4	12
<i>Acacia caven</i> (Molina) Molina	N	Fabaceae	237	20	6	7	7	6	130	101
<i>Acacia praecox</i> Griseb.	N	Fabaceae	501	14	4	5	5	4	300	197
<i>Acalypha communis</i> Müll. Arg.	N	Euphorbiaceae	118	9	2	2	5	2	7	109
<i>Acanthospermum hispidum</i> DC.	N	Asteraceae	3	1	0	0	1	0	0	3
<i>Acer negundo</i> L.	NN	Sapindaceae	4	1	0	0	1	0	0	4
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	N	Asteraceae	6	2	0	0	2	0	0	6
<i>Adiantum</i> sp.	N	Pteridaceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Agrostis montevidensis</i> Spreng.	N	Poaceae	7	3	1	1	1	1	1	5
<i>Aloysia gratissima</i> (Gillies & Hook.) Tronc.	N	Verbenaceae	630	20	6	7	7	6	435	189

<i>Alternanthera pungens</i> Kunth	N	Amaranthaceae	30	4	1	2	1	1	4	25
<i>Amaranthus hybridus</i> L. ssp. <i>hybridus</i>	NN	Amaranthaceae	5	2	1	1	0	1	4	0
<i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	N	Asteraceae	116	4	1	1	2	1	8	107
<i>Amelichloa brachychaeta</i> (Godr.) Arriaga & Barkworth	N	Poaceae	3	2	0	1	1	0	1	2
<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam.	N	Apiaceae	9	3	0	0	3	0	0	9
<i>Amphilophium carolinae</i> (Lindl.) L. G. Lohmann	N	Bignoniaceae	399	19	6	7	6	6	299	94
<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw.	N	Anemiaceae	180	4	0	0	4	0	0	180
<i>Dimerostemma aspilioides</i> (Griseb.) M.D. Moraes	N	Asteraceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis	N	Basellaceae	544	20	6	7	7	6	390	148
<i>Anthemis cotula</i> L.	N	Asteraceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Arctium minus</i> (Hill) Bernh.	NN	Asteraceae	7	2	1	1	0	1	6	0
<i>Chiropetalum argentinense</i> Skottsbo.	N	Euphorbiaceae	31	7	1	2	4	1	12	18
<i>Chiropetalum griseum</i> Griseb.	N	Euphorbiaceae	85	11	3	4	4	3	64	18
<i>Aristolochia argentina</i> Griseb.	N	Aristolochiaceae	11	3	0	2	1	0	5	6
<i>Artemisia annua</i> L.	N	Asteraceae	2	2	0	0	2	0	0	2
<i>Asparagus setaceus</i> (Kunth) Jessop	NN	Asparagaceae	3	1	0	0	1	0	0	3
<i>Aspidosperma quebracho-blanco</i> Schtdl.	N	Apocynaceae	177	15	5	6	4	5	117	55
<i>Baccharis coridifolia</i> DC.	N	Asteraceae	21	4	1	0	3	1	0	20
<i>Baccharis glutinosa</i> Pers.	N	Asteraceae	67	5	1	3	1	1	41	25
<i>Baccharis rufescens</i> Spreng. var. <i>ventanica</i> Cabrera	N	Asteraceae	2	1	0	0	1	0	0	2
<i>Baccharis ulicina</i> Hook. & Arn.	N	Asteraceae	12	5	1	3	1	1	8	3

<i>Berberis ruscifolia</i> Lam.	N	Berberidaceae	95	9	2	5	2	2	50	43
<i>Bernardia multicaulis</i> Müll. Arg.	N	Euphorbiaceae	3	1	0	0	1	0	0	3
<i>Bidens pilosa</i> L.	N	Asteraceae	790	18	6	5	7	6	117	667
<i>Bidens subalternans</i> DC.	N	Asteraceae	1194	19	5	7	7	5	447	742
<i>Blechnum australe</i> L. ssp. <i>auriculatum</i> (Cav.) de la Sota	N	Blechnaceae	5	3	0	1	2	0	1	4
<i>Borreria spinosa</i> (L.) Cham. & Schltdl.	N	Rubiaceae	19	2	0	0	2	0	0	19
<i>Bothriochloa laguroides</i> (DC.) Herter ssp. <i>laguroides</i>	N	Poaceae	80	6	1	3	2	1	29	50
<i>Bougainvillea stipitata</i> Griseb.	N	Nyctaginaceae	3	2	0	0	2	0	0	3
<i>Bouteloua curtipendula</i> (Michx.) Torr. Gould & Kapadia	N	Poaceae	176	10	2	4	4	2	55	119
<i>Bromus catharticus</i> Vahl var. <i>Catharticus</i>	N	Poaceae	51	2	0	2	0	0	51	0
<i>Broussonetia papyrifera</i> (L.) Vent.	NN	Moraceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Caesalpinia gilliesii</i> (Wall. ex Hook.) D. Dietr.	N	Fabaceae	15	6	1	2	3	1	7	7
<i>Capparis atamisquea</i> Kuntze	N	Capparaceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Capsicum chacoense</i> Hunz.	N	Solanaceae	6	4	1	3	0	1	5	0
<i>Cardiospermum halicacabum</i> L.	N	Sapindaceae	41	6	3	2	1	3	12	26
<i>Carduus acanthoides</i> L.	NN	Asteraceae	41	6	3	0	3	3	0	38
<i>Carduus thoermeri</i> Weinm.	N	Asteraceae	2	1	0	0	1	0	0	2
<i>Celtis australis</i> L.	NN	Celtidaceae	14	3	1	1	1	1	8	5
<i>Celtis ehrenbergiana</i> (Klotzsch) Liebm.	N	Celtidaceae	591	20	6	7	7	6	357	228
<i>Cenchrus myosuroides</i> H.B.K.	N	Poaceae	184	4	1	1	2	1	100	83
<i>Cenchrus spinifex</i> Cav.	N	Poaceae	1	1	0	0	1	0	0	1

<i>Cestrum lorentzianum</i> Griseb.	N	Solanaceae	10	2	0	0	2	0	0	10
<i>Cestrum parqui</i> L'Hér.	N	Solanaceae	793	20	6	7	7	6	456	331
<i>Chaptalia integerrima</i> (Vell.) Burkart	N	Asteraceae	7	2	0	0	2	0	0	7
<i>Chaptalia nutans</i> (L.) Pol.	N	Asteraceae	207	19	5	7	7	5	95	107
<i>Chascolytrum subaristatum</i> (Lam.) Desv.	N	Poaceae	17	1	0	0	1	0	0	17
<i>Cheilanthes buchtienii</i> (Rosenst.) R. M. Tryon	N	Pteridaceae	8	1	0	0	1	0	0	8
<i>Chenopodium album</i> L.	NN	Chenopodiaceae	36	9	5	1	3	5	1	30
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants	N	Chenopodiaceae	35	6	4	2	0	4	31	0
<i>Chromolaena hookeriana</i> (Griseb.) R.M. King & H. Rob.	N	Asteraceae	1133	19	6	6	7	6	515	612
<i>Clematis montevidensis</i> Spreng.	N	Ranunculaceae	184	17	5	6	6	5	150	29
<i>Cleome aculeata</i> L.	N	Cleomaceae	13	4	1	1	2	1	2	10
<i>Clitoria cordobensis</i> Burkart	N	Fabaceae	13	1	0	0	1	0	0	13
<i>Colletia spinosissima</i> J.F. Gmel.	N	Rhamnaceae	41	3	1	0	2	1	0	40
<i>Cologania broussonetii</i> (Balb.) DC.	N	Fabaceae	192	6	0	3	3	0	9	183
<i>Commelina erecta</i> L.	N	Commelinaceae	163	17	4	7	6	4	74	85
<i>Condalia buxifolia</i> Reissek	N	Rhamnaceae	66	12	3	4	5	3	30	33
<i>Condalia microphylla</i> Cav.	N	Rhamnaceae	38	13	3	5	5	3	17	18
<i>Condalia montana</i> A. Cast.	N	Rhamnaceae	134	14	4	4	6	4	44	86
<i>Conium maculatum</i> L.	NN	Apiaceae	6	2	1	0	1	1	0	5
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	N	Convolvulaceae	30	6	2	3	1	2	27	1
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist	N	Asteraceae	65	5	1	1	3	1	1	63

<i>Conyza lorentzii</i> Griseb.	N	Asteraceae	19	8	3	2	3	3	6	10
<i>Cordobia argentea</i> (Griseb.) Nied.	N	Malpighiaceae	6	4	2	1	1	2	3	1
<i>Cosmos sulphureus</i> Cav.	NN	Asteraceae	2	1	0	0	1	0	0	2
<i>Coursetia hassleri</i> Chodat	N	Fabaceae	485	10	2	5	3	2	195	288
<i>Croton lachnostachyus</i> Baill.	N	Euphorbiaceae	628	14	4	5	5	4	416	208
<i>Cucurbitella asperata</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Walp.	N	Cucurbitaceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Cuphea glutinosa</i> Cham. & Schltdl.	N	Lythraceae	4	3	1	0	2	1	0	3
<i>Cuscuta</i> sp.	N	Convolvulaceae	27	3	1	1	1	1	1	25
<i>Cyclospermum leptophyllum</i> (Pers.) Sprague	N	Apiaceae	29	2	0	1	1	0	4	25
<i>Cynanchum bonariense</i> (Decne.) T. Mey.	N	Apocynaceae	45	11	3	4	4	3	28	14
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	NN	Poaceae	26	2	1	0	1	1	0	25
<i>Cynoglossum amabile</i> Stapf & J. R. Drumm.	NN	Boraginaceae	78	3	0	2	1	0	8	70
<i>Cyperus aggregatus</i> (Willd.) Endl. var. <i>aggregatus</i>	N	Cyperaceae	952	17	6	5	6	6	432	514
<i>Cyperus hermaphroditus</i> (Jacq.) Standl.	N	Cyperaceae	195	7	2	1	4	2	3	190
<i>Cyperus incommutus</i> Kunth	N	Cyperaceae	475	12	2	5	5	2	186	287
<i>Daucus pusillus</i> Michx.	N	Apiaceae	73	4	0	0	4	0	0	73
<i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willd.	N	Fabaceae	10	2	0	0	2	0	0	10
<i>Desmodium neo-mexicanum</i> A. Gray	N	Fabaceae	4	3	1	1	1	1	2	1
<i>Desmodium uncinatum</i> (Jacq.) DC.	N	Fabaceae	22	6	1	2	3	1	3	18
<i>Dichondra microcalyx</i> (Hallier f.) Fabris	N	Convolvulaceae	2044	15	4	4	7	4	536	1504
<i>Dichondra sericea</i> Sw. var. <i>holosericea</i> (O'Donnell) Fabris	N	Convolvulaceae	515	4	0	2	2	0	310	205

<i>Dicliptera squarrosa</i> Nees	N	Acanthaceae	574	19	6	6	7	6	463	105
<i>Digitaria ciliaris</i> (Retz.) Koeler	N	Poaceae	45	4	0	4	0	0	45	0
<i>Digitaria sacchariflora</i> (Nees) Henrard	N	Poaceae	50	2	0	1	1	0	25	25
<i>Dolichandra cynanchoides</i> Cham.	N	Bignoniaceae	444	8	1	2	5	1	51	392
<i>Doryopteris concolor</i> (Langsd. & Fisch.) Kuhn	N	Pteridaceae	29	3	0	3	0	0	29	0
<i>Duchesnea indica</i> (Andrews) Focke	NN	Rosaceae	27	2	0	0	2	0	0	27
<i>Ephedra triandra</i> Tul.	N	Ephedraceae	20	14	6	4	4	6	5	9
<i>Eragrostis lugens</i> Nees	N	Poaceae	85	4	0	3	1	0	34	51
<i>Eryngium elegans</i> Cham. & Schltldl.	N	Apiaceae	50	1	0	0	1	0	0	50
<i>Eryngium horridum</i> Malme	N	Apiaceae	4	1	0	0	1	0	0	4
<i>Fleischmannia prasiifolia</i> (Griseb.) R.M. King & H.Rob.	N	Asteraceae	208	14	4	3	7	4	106	98
<i>Chromolaena arnottiana</i> (Griseb.) R.M. King & H.Rob.	N	Asteraceae	32	3	0	2	1	0	27	5
<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King & H. Rob.	N	Asteraceae	12	5	2	1	2	2	4	6
<i>Austroeupatorium inulifolium</i> (Kunth) R.M. King & H.Rob	N	Asteraceae	46	3	0	2	1	0	45	1
<i>Chromolaena squarroso-ramosa</i> (Hieron.) R.M. King & H.Rob.	N	Asteraceae	33	3	0	2	1	0	31	2
<i>Chromolaena hirsuta</i> (Hook. & Arn.) R.M. King & H.Rob.	N	Asteraceae	17	4	0	1	3	0	1	16
<i>Lorentzianthus viscidus</i> (Hook. & Arn.) R.M. King & H.Rob.	N	Asteraceae	129	14	5	3	6	5	64	60
<i>Euphorbia acerensis</i> Boiss.	N	Euphorbiaceae	713	20	6	7	7	6	177	530
<i>Euphorbia collina</i> Phil. var. <i>andina</i> (Phil.) Subils	N	Euphorbiaceae	40	1	0	1	0	0	40	0
<i>Euphorbia dentata</i> Michx.	NN	Euphorbiaceae	73	11	5	2	4	5	5	63
<i>Euphorbia hirta</i> L.	NN	Euphorbiaceae	4	2	0	1	1	0	3	1

<i>Euphorbia peplus</i> L.	N	Euphorbiaceae	2	1	0	1	0	0	2	0
<i>Exhalimolobos weddellii</i> (E. Fourn.) Al-Shehbaz & C.D. Bailey	N	Brassicaceae	297	13	3	5	5	3	200	94
<i>Flourensia campestris</i> Griseb.	N	Asteraceae	11	1	0	1	0	0	11	0
<i>Gaillardia megapotamica</i> (Spreng.) Baker	N	Asteraceae	32	2	0	2	0	0	32	0
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	N	Asteraceae	178	4	1	1	2	1	2	175
<i>Galium latoramosum</i> Clos	N	Rubiaceae	89	11	1	4	6	1	16	72
<i>Galium richardianum</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Endl. ex Walp.	N	Rubiaceae	120	12	3	3	6	3	80	37
<i>Gamochaeta falcata</i> (Lam.) Cabrera	N	Asteraceae	25	1	0	0	1	0	0	25
<i>Gaya parviflora</i> (Phil.) Krapov.	N	Malvaceae	75	5	0	3	2	0	34	41
<i>Geoffroea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	N	Fabaceae	193	16	6	6	4	6	160	27
<i>Glandularia aff. dissecta</i> (Willd. ex Spreng.) Schnack & Covas	N	Verbenaceae	2	1	0	1	0	0	2	0
<i>Glandularia peruviana</i> (L.) Small	N	Verbenaceae	3	2	1	0	1	1	0	2
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.	NN	Fabaceae	80	8	2	1	5	2	37	41
<i>Gomphrena pulchella</i> Mart.	N	Amaranthaceae	36	5	2	1	2	2	29	5
<i>Gomphrena tomentosa</i> (Griseb.) R. E. Fr.	N	Amaranthaceae	13	1	0	1	0	0	13	0
<i>Gouinia latifolia</i> (Griseb.) Vasey	N	Poaceae	479	14	5	4	5	5	274	200
<i>Gymnocalycium</i> sp.	N	Cactaceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Heimia salicifolia</i> (Kunth) Link	N	Lythraceae	138	10	2	6	2	2	95	41
<i>Heliotropium amplexicaule</i> Vahl	N	Boraginaceae	4	1	0	0	1	0	0	4
<i>Heterosperma ovatifolium</i> Cav.	N	Asteraceae	1382	12	3	2	7	3	41	1338
<i>Heterotheca subaxillaris</i> (Lam.) Britton & Rusby	N	Asteraceae	25	1	0	0	1	0	0	25

<i>Hypochaeris chillensis</i> (Kunth) Hieron.	N	Asteraceae	26	2	0	0	2	0	0	26
<i>Hypochaeris microcephala</i> (Sch. Bip.) Cabrera	N	Asteraceae	2	2	0	1	1	0	1	1
<i>Hypochaeris radicata</i> L.	N	Asteraceae	3	2	0	1	1	0	1	2
<i>Cantinoa mutabilis</i> (Rich.) Harley & J.F.B. Pastore	N	Lamiaceae	1267	12	1	4	7	1	255	1011
<i>Ibicella parodii</i> Abbiati	N	Martyniaceae	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet	N	Convolvulaceae	8	1	0	0	1	0	0	8
<i>Ipomoea nil</i> (L.) Roth	N	Convolvulaceae	12	3	2	0	1	2	0	10
<i>Ipomoea purpurea</i> (L.) Roth	N	Convolvulaceae	260	16	5	6	5	5	169	86
<i>Ipomoea rubriflora</i> O Donell	N	Convolvulaceae	26	3	1	2	0	1	25	0
<i>Iresine diffusa</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	N	Amaranthaceae	925	20	6	7	7	6	330	589
<i>Janusia guaranitica</i> (A. St. -Hil.) A. Juss.	N	Malpighiaceae	137	18	6	5	7	6	105	26
<i>Jarava ichu</i> Ruiz & Pav.	N	Poaceae	190	13	4	6	3	4	93	93
<i>Jarava plumosa</i> (Spreng.) S.W.L. Jacobs & J. Everett	N	Poaceae	14	3	0	1	2	0	10	4
<i>Jodina rhombifolia</i> (Hook. & Arn.) Reissek	N	Cervantesiaceae	15	9	3	4	2	3	9	3
<i>Kageneckia lanceolata</i> Ruiz & Pav.	N	Rosaceae	2	1	0	0	1	0	0	2
<i>Krapovickasia flavescens</i> (Cav.) Fryxell	N	Malvaceae	60	4	0	1	3	0	3	57
<i>Lantana balansae</i> Briq.	N	Verbenaceae	60	10	2	5	3	2	47	11
<i>Lantana camara</i> L.	NN	Verbenaceae	296	13	4	5	4	4	49	243
<i>Lantana grisebachii</i> Seckt	N	Verbenaceae	54	12	2	5	5	2	21	31
<i>Leonurus japonicus</i> Houtt.	NN	Lamiaceae	365	13	5	4	4	5	237	123
<i>Lepechinia floribunda</i> (Benth.) Epling	N	Lamiaceae	181	11	4	2	5	4	12	165

<i>Lepidium bonariense</i> L.	N	Brassicaceae	132	9	1	2	6	1	10	121
<i>Ligustrum lucidum</i> W. T. Aiton	NN	Oleaceae	121	10	3	2	5	3	65	53
<i>Lippia junelliana</i> (Moldenke) Tronc.	N	Verbenaceae	8	3	0	1	2	0	2	6
<i>Lippia turbinata</i> Griseb.	N	Verbenaceae	26	9	3	4	2	3	11	13
<i>Lithrea molleoides</i> (Vell.) Engl.	N	Anacardiaceae	68	10	3	2	5	3	18	47
<i>Lycium cestroides</i> Schltdl.	N	Solanaceae	41	11	5	4	2	5	13	23
<i>Lycium ciliatum</i> Schltdl.	N	Solanaceae	53	9	2	4	3	2	18	33
<i>Lycium elongatum</i> Miers.	N	Solanaceae	15	2	0	1	1	0	14	1
<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke	N	Malvaceae	867	19	6	6	7	6	297	564
<i>Malvastrum interruptum</i> K. Schum.	N	Malvaceae	105	12	2	5	5	2	89	14
<i>Mandevilla laxa</i> (Ruiz & Pav.) Woodson	N	Apocynaceae	33	8	2	2	3	2	7	24
<i>Mandevilla pentlandiana</i> (A. DC.) Woodson	N	Apocynaceae	180	12	4	4	4	4	64	112
<i>Manihot grahamii</i> Hook.	NN	Euphorbiaceae	6	1	0	1	0	0	6	0
<i>Melia azederach</i> L.	NN	Meliaceae	15	5	0	3	2	0	7	8
<i>Melica argyrea</i> Hack.	N	Poaceae	2	2	0	0	2	0	0	2
<i>Melica macra</i> Nees	N	Poaceae	4	4	1	1	2	1	1	2
<i>Melochia argentina</i> R. E. Fr.	N	Malvaceae	9	2	0	1	1	0	1	8
<i>Menodora integrifolia</i> (Cham. & Schltdl.) Steud. var. <i>integrifolia</i>	N	Oleaceae	2	1	0	1	0	0	2	0
<i>Mikania urticifolia</i> Hook. & Arn.	N	Asteraceae	6	1	0	0	1	0	0	6
<i>Minthostachys verticillata</i> (Griseb.) Epling	N	Malvaceae	46	2	0	0	2	0	0	46
<i>Modiolastrum gilliesii</i> (Steud.) Krapov.	N	Malvaceae	11	6	1	2	3	1	4	6

<i>Modiolastrum malvifolium</i> (Griseb.) K. Schum.	N	Malvaceae	82	6	2	2	2	2	47	33
<i>Mollugo verticillata</i> L.	N	Molluginaceae	4	3	2	1	0	2	2	0
<i>Araujia brachystephana</i> (Griseb.) Fontella & Goyder	N	Apocynaceae	5	4	3	0	1	3	0	2
<i>Araujia odorata</i> (Hook. & Arn.) Fontella & Goyder	N	Apocynaceae	25	14	4	5	5	4	11	10
<i>Morus alba</i> L.	NN	Moraceae	38	15	5	5	5	5	26	7
<i>Nassella cordobensis</i> (Speg.) Barkworth	N	Poaceae	100	1	0	0	1	0	0	100
<i>Nassella hyalina</i> (Nees) Barkworth	N	Poaceae	255	5	1	4	4	1	142	112
<i>Nassella neesiana</i> (Trin. & Rupr.) Barkworth	N	Poaceae	109	9	1	3	5	1	10	98
<i>Nierembergia aristata</i> D. Don	N	Solanaceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Nierembergia linariaefolia</i> Graham var. <i>linariaefolia</i>	N	Solanaceae	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>Oenothera curtiflora</i> W. L. Wagner & Hoch	N	Onagraceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Ophryosporus axilliflorus</i> (Griseb.) Hieron.	N	Asteraceae	26	7	3	1	3	3	14	9
<i>Oplismenus hirtellus</i> (L.) P. Beauv. subsp. <i>hirtellus</i>	NN	Poaceae	7901	14	4	5	5	4	2434	2185
<i>Opuntia anacantha</i> Speg. var. <i>anacantha</i>	N	Cactaceae	603	1	0	1	0	0	603	0
<i>Opuntia salmiana</i> Parm.	N	Cactaceae	8	4	2	0	2	2	1	3
<i>Opuntia sulphurea</i> Gillies	N	Cactaceae	13	3	1	2	0	1	11	0
<i>Oxalis articulata</i> Savigny ssp. <i>articulata</i>	N	Oxalidaceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Oxalis conorrhiza</i> Jacq.	N	Oxalidaceae	78	6	1	3	2	1	37	39
<i>Oxalis lasiopetala</i> Zucc.	N	Oxalidaceae	2	1	0	1	0	0	2	0
<i>Panicum bergii</i> Arechav. var. <i>bergii</i>	N	Poaceae	4	2	0	1	1	0	2	2
<i>Parietaria debilis</i> G. Forst.	N	Urticaceae	47	7	2	2	3	2	26	17

<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	N	Asteraceae	69	6	2	2	2	2	6	56
<i>Paspalum malacophyllum</i> Trin.	N	Poaceae	312	6	1	1	4	1	1	236
<i>Paspalum notatum</i> Flügge	N	Poaceae	678	6	0	1	5	0	50	628
<i>Paspalum quadrifarium</i> Lam.	N	Poaceae	26	1	0	1	0	0	26	0
<i>Paspalum unispicatum</i> (Scribn. & Merr.) Nash	N	Poaceae	26	2	1	1	0	1	1	0
<i>Passiflora caerulea</i> L.	N	Passifloraceae	19	7	2	2	3	2	4	10
<i>Passiflora mooreana</i> Hook.f.	N	Passifloraceae	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>Passiflora morifolia</i> Mast.	N	Passifloraceae	418	16	5	6	5	5	149	72
<i>Passiflora suberosa</i> L.	N	Passifloraceae	60	5	1	2	2	1	44	15
<i>Pavonia argentina</i> Gürke	N	Malvaceae	9	2	0	0	2	0	0	9
<i>Pavonia aurigloba</i> Krapov. & Cristobal	N	Malvaceae	39	4	1	0	3	1	0	38
<i>Pavonia glechomoides</i> A. St.-Hil.	N	Malvaceae	30	1	0	1	0	0	30	0
<i>Pavonia revoluta</i> Krapov. & Cristobal	N	Malvaceae	37	5	1	1	3	1	4	32
<i>Pfaffia gnaphliodes</i> (L. f.) Mart	N	Amaranthaceae	11	5	1	2	2	1	8	2
<i>Philibertia gilliesii</i> Hook. & Arn.	N	Apocynaceae	14	9	3	3	3	3	6	5
<i>Philibertia tomentosa</i> (Decne.) Goyder	N	Apocynaceae	4	1	0	0	1	0	0	4
<i>Phyllanthus ramillosus</i> Müll. Arg.	N	Phyllanthaceae	4	3	1	1	1	1	2	1
<i>Piptochaetium lasianthum</i> Griseb.	N	Poaceae	3	2	1	0	1	1	0	2
<i>Piptochaetium montevidensis</i> (Spreng.) Parodi	N	Poaceae	80	7	0	3	4	0	31	49
<i>Plantago major</i> L.	N	Plantaginaceae	64	3	0	0	3	0	0	64
<i>Plantago tomentosa</i> Lam.	N	Plantaginaceae	43	4	0	1	3	0	14	29

<i>Plumbago caerulea</i> Kunth	N	Plumbaginaceae	6	2	0	1	1	0	1	5
<i>Podocoma hieracifolia</i> (Poir.) Cass.	N	Asteraceae	25	1	0	0	1	0	0	25
<i>Podocoma hirsuta</i> (Hook. & Arn.) Baker	N	Asteraceae	18	6	2	2	2	2	2	14
<i>Porlieria microphylla</i> (Baill.) Descole, O'Donell & Lourteig	N	Zygophyllaceae	217	19	6	6	7	6	129	82
<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.	N	Asteraceae	3	2	1	1	0	1	2	0
<i>Portulaca oleracea</i> L.	NN	Portulacaceae	3	3	1	2	0	1	2	0
<i>Prosopis alba</i> Griseb.	N	Fabaceae	36	16	6	6	4	6	21	9
<i>Prosopis nigra</i> (Griseb.) Hieron.	N	Fabaceae	18	6	2	3	1	2	15	1
<i>Pseudabutilon virgatum</i> (Cav.) Fryxell	N	Malvaceae	482	18	6	6	6	6	289	187
<i>Ranunculus praemorsus</i> Kunth ex DC.	N	Ranunculaceae	6	2	1	0	1	1	0	5
<i>Rhynchosia edulis</i> Griseb.	N	Fabaceae	145	7	0	3	4	0	102	43
<i>Rhynchosia senna</i> Gillies ex Hook. var. <i>senna</i>	N	Fabaceae	4	2	1	0	1	1	0	3
<i>Richardia brasiliensis</i> Gomes	N	Rubiaceae	147	3	1	2	0	1	146	0
<i>Rivina humilis</i> L.	N	Phytolaccaceae	506	16	5	4	7	5	288	213
<i>Rorippa bonariensis</i> (Poir.) Macloskie	N	Brassicaceae	349	4	0	2	2	0	289	60
<i>Ruprechtia apetala</i> Wedd.	N	Polygonaceae	31	7	1	2	4	1	8	22
<i>Salpichroa organifolia</i> (Lam.) Baill.	N	Solanaceae	300	19	6	6	7	6	67	227
<i>Schinus areira</i> L.	N	Anacardiaceae	50	9	2	4	3	2	16	25
<i>Schinus fasciculatus</i> (Griseb.) I.M. Johnst.	N	Anacardiaceae	88	15	4	4	7	4	49	35
<i>Schkuhria pinnata</i> (Lam.) Kuntze ex Thell.	N	Asteraceae	3	2	1	0	1	1	0	2
<i>Selaginella sellowii</i> Hieron.	N	Selaginellaceae	7	2	0	1	1	0	5	2

<i>Senecio pampeanus</i> Cabrera	N	Asteraceae	36	5	0	1	4	0	1	35
<i>Senecio vira-vira</i> Hieron.	N	Asteraceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Setaria hunzikeri</i> Anton	N	Poaceae	5	3	0	1	2	0	1	4
<i>Setaria lachnea</i> (Nees) Kunth	N	Poaceae	331	15	4	6	5	4	259	68
<i>Setaria macrostachya</i> Kunth	N	Poaceae	48	5	1	1	3	1	3	44
<i>Setaria oblongata</i> (Griseb.) Parodi	N	Poaceae	26	2	1	1	0	1	25	0
<i>Setaria pampeana</i> Parodi ex Nicora	N	Poaceae	290	9	1	5	3	1	230	59
<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	N	Poaceae	167	11	4	6	1	4	134	29
<i>Setaria vaginata</i> Spreng.	N	Poaceae	525	18	5	6	7	5	420	100
<i>Sida dictyocarpa</i> Griseb.	N	Malvaceae	845	19	6	6	7	6	489	350
<i>Sida rhombifolia</i> L.	N	Malvaceae	2197	20	6	7	7	6	922	1269
<i>Sida spinosa</i> L.	N	Malvaceae	626	15	5	5	5	5	556	65
<i>Silene antirrhina</i> L. var. <i>antirrhina</i>	N	Caryophyllaceae	18	4	0	2	2	0	11	7
<i>Silene argentina</i> (Pax.) Bocquet	N	Caryophyllaceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Simsia dombeyana</i> DC.	N	Asteraceae	5	1	0	1	0	0	5	0
<i>Sisymbrium irio</i> L.	N	Brassicaceae	33	2	1	1	0	1	32	0
<i>Sisyrinchium chilense</i> Hook. ssp. <i>chilense</i>	N	Iridaceae	5	2	0	1	1	0	3	2
<i>Solanum argentinum</i> Bitter & Lillo	N	Solanaceae	1717	17	6	6	5	6	1028	683
<i>Solanum chacöense</i> Bitter	N	Solanaceae	29	10	4	2	4	4	6	19
<i>Solanum chenopodioides</i> Lam.	N	Solanaceae	138	11	4	5	2	4	122	12
<i>Solanum elaeagnifolium</i> Cav.	N	Solanaceae	95	7	2	4	1	2	68	25

<i>Solanum incisum</i> Griseb.	N	Solanaceae	15	5	3	1	1	3	11	1
<i>Solanum palinacanthum</i> Dunal	N	Solanaceae	180	6	1	2	3	1	94	85
<i>Solanum pseudocapsicum</i> L.	N	Solanaceae	32	7	2	1	4	2	9	21
<i>Solanum sarrachoides</i> Snedtn.	N	Solanaceae	17	2	1	1	0	1	8	8
<i>Solanum sisymbriifolium</i> Lam.	N	Solanaceae	7	2	1	1	0	1	6	0
<i>Solanum stuckertii</i> Bitter	N	Solanaceae	9	5	2	2	1	2	4	3
<i>Solidago chilensis</i> Meyen	N	Asteraceae	52	7	2	4	1	2	44	6
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	NN	Asteraceae	4	2	0	1	1	0	2	2
<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	NN	Poaceae	121	5	3	2	0	3	118	0
<i>Sphaeralcea cordobensis</i> Krapov.	N	Malvaceae	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>Stenandrium dulce</i> (Cav.) Nees	N	Acanthaceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Tagetes minuta</i> L.	N	Asteraceae	77	5	1	2	2	1	29	47
<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn.	NN	Talinaceae	365	17	5	6	6	5	186	179
<i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F.H.Wigg.	N	Asteraceae	190	3	0	1	2	0	173	17
<i>Thalichtrum decipiens</i> Boivin	N	Ranunculaceae	2	1	0	0	1	0	0	2
<i>Tillandsia aizoides</i> Mez	N	Bromeliaceae	182	11	5	3	3	5	166	11
<i>Tillandsia capillaris</i> Ruiz & Pav.	N	Bromeliaceae	2342	20	6	7	7	6	1229	1107
<i>Tillandsia myosura</i> Griseb. ex Baker	N	Bromeliaceae	37	2	0	2	0	0	37	0
<i>Tillandsia rectangula</i> Baker	N	Bromeliaceae	103	1	0	0	1	0	0	103
<i>Tillandsia retorta</i> Griseb. ex Baker	N	Bromeliaceae	7	3	0	1	2	0	2	5
<i>Tragia geraniifolia</i> Klotzsch ex Baill.	N	Euphorbiaceae	13	5	1	2	2	1	3	9

<i>Tragia melochoides</i> Griseb.	N	Euphorbiaceae	8	3	1	1	1	1	6	1
<i>Tragia volubilis</i> L.	N	Euphorbiaceae	27	3	1	0	2	1	0	26
<i>Trichloris pluriflora</i> E. Fourn. fo. <i>pluriflora</i>	N	Poaceae	53	8	2	3	3	2	34	17
<i>Trixis divaricata</i> (Kunth) Spreng.	N	Asteraceae	3	1	0	0	1	0	0	3
<i>Turnera sidoides</i> L.	N	Turneraceae	4	3	0	0	3	0	0	4
<i>Ulmus pumila</i> L.	NN	Ulmaceae	27	3	0	1	2	0	1	26
<i>Valeriana effusa</i> Griseb.	N	Valerianaceae	40	1	0	0	1	0	0	40
<i>Verbena litoralis</i> Kunth	N	Verbenaceae	39	5	1	2	2	1	12	26
<i>Lessingianthus mollissimus</i> (D. Don ex Hook. & Arn.) H. Rob.	N	Asteraceae	1	1	0	0	1	0	0	1
<i>Vernonanthura nudiflora</i> (Less.) H. Rob.	N	Asteraceae	116	4	1	0	3	1	0	115
<i>Vigna caracalla</i> (L.) Verdc.	NN	Fabaceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Viola metajaponica</i> Nakai	NN	Violaceae	25	1	0	0	1	0	0	25
<i>Wahlenbergia linarioides</i> (Lam.) A. DC.	N	Campanulaceae	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>Pascalia glauca</i> Ortega	N	Asteraceae	35	5	2	1	2	2	25	8
<i>Woodsia montevidensis</i> (Spreng.) Hieron.	N	Woodsiaceae	2	1	0	0	1	0	0	2
<i>Xanthium strumarium</i> L.	N	Asteraceae	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Xanthium spinosum</i> L. var. <i>spinosum</i>	N	Asteraceae	29	1	0	0	1	0	0	29
<i>Zanthoxylum coco</i> Gillies ex Hook. f. et Arn.	N	Rutaceae	35	10	3	3	4	3	8	14
<i>Zinnia peruviana</i> (L.) L.	N	Asteraceae	70	5	2	0	3	2	0	68

CAPÍTULO V

DIVERSIDAD Y SUPERVIVENCIA DE PLANTAS VASCULARES NATIVAS EN FRAGMENTOS DE BOSQUE CHAQUEÑO: RELACIONES CON LA SENSIBILIDAD DE LAS PLANTAS AL GLIFOSATO Y EL GRADO DE EXPOSICIÓN A ESTE HERBICIDA UTILIZADO EN LOS CULTIVOS

INTRODUCCIÓN

La evaluación de la vulnerabilidad de la biodiversidad a la fragmentación de bosque y a los distintos usos de la tierra, implica la búsqueda de potenciales indicadores de cambio en la diversidad, composición y supervivencia de las especies. Para ello, es necesario determinar cuáles son los factores, principalmente aquéllos relacionados con disturbios antropogénicos, que influyen con mayor intensidad en los procesos ecológicos dentro de los fragmentos remanentes (Saunders et al., 1991).

La fragmentación y pérdida de ambientes naturales puede provocar alteraciones en numerosos procesos ecológicos clave que regulan la disponibilidad de recursos en el ambiente y que determinan los patrones de interacción entre las distintas especies de la comunidad (Aguilar y Galetto, 2004; Alpert et al., 2000; Didham et al., 2007; Ferreras et al., 2008; Grilli et al., 2012). Estas alteraciones pueden tener como consecuencia una degradación de los suelos y de la cobertura vegetal, dificultando y/o modificando la recolonización de especies de plantas nativas en los terrenos disturbados (Lockwood et al., 2007). Diversos autores sugieren, además, que el proceso de fragmentación puede modificar de manera significativa la diversidad y composición de las especies vegetales residentes en las comunidades originales, a partir de cambios en la configuración espacial y el tamaño de los remanentes de bosque (Arroyo-Rodríguez et al., 2008; Fahrig, 2003; Hanski, 2015; Honnay et al., 1999). Es

decir, los efectos de la fragmentación pueden determinar cambios bióticos y abióticos en los sistemas boscosos fragmentados, alterando los atributos de las comunidades naturales y modificando su susceptibilidad a diversos disturbios externos (Theoharides y Dukes, 2007; Yates et al., 2008).

Los estudios de monitoreo a gran escala realizados durante las últimas décadas, han detectado importantes reducciones en la diversidad de plantas de los márgenes de los campos cultivados (Bunce et al., 1994; Kleijn y Verbeek, 2000; Rob-Nickoll et al., 2004). Uno de los factores que contribuye a la reducción de la diversidad de plantas en estos márgenes, es la deriva de herbicidas (Andreasen y Streibig, 2011; De Snoo, 1999; Kleijn y Snoeijing, 1997; Marrs y Frost, 1997). Esto se debe, principalmente, a que la aplicación de herbicidas sobre un cultivo se lleva a cabo hasta el borde del campo y, en consecuencia, las superficies adyacentes de las comunidades naturales son directamente pulverizadas, y quedan, además, expuestas a la deriva resultante (Schmitz et al., 2014). En algunos agroecosistemas, los márgenes y límites del campo (por ejemplo, bordes del alambrado, banquinas, bosques, etc.) son los únicos hábitats remanentes para numerosas especies de plantas silvestres, muy importantes por los beneficios que aportan y/o por su valor intrínseco como bien común. A veces, incluso, estos ambientes representan el único hábitat disponible para especies en riesgo de extinción (Türe y Böcük, 2008). El mantenimiento a largo plazo de sus poblaciones, particularmente cerca de los bordes de los campos de cultivo, es fundamental, ya que pueden estar en peligro por la deriva de los tratamientos con herbicidas en los cultivos. Varios estudios han demostrado que las plantas no-blanco se ven afectadas por herbicidas (por ejemplo, Boutin 1998; Gove et al., 2007; Schmitz et al., 2014), lo que conduce a cambios en la riqueza y/o estructura de las comunidades de plantas a corto y largo plazo (por ejemplo, Egan et al., 2014; Gove et al., 2007; Schmitz et al., 2014).

El contexto del paisaje es fundamental para la comprensión de los patrones de biodiversidad local (Gustafson, 1998; Kareiva y Wennergren, 1995; Wiegand et al., 1999), dado que los procesos ecológicos operan en un rango de escalas espaciales más grandes que solo a nivel de fragmentos de bosque (Dunning et al., 1992). Sin embargo, la importancia del contexto del paisaje en la determinación local de patrones de diversidad, ha recibido una atención limitada en la ecología de las plantas (Blois et al., 2002), por lo tanto, surge el interrogante de si la diversidad y composición de plantas también pueden estar influidas por el contexto del paisaje y los diferentes usos de la tierra que se dan en él (Kollmann y Schneider, 1999).

Si bien la mayoría de los estudios sobre los cambios en la biodiversidad por el proceso de fragmentación y cambio de uso de la tierra han sido realizados considerando la fragmentación de hábitat *per se* en los remanentes de bosque, es importante también considerar que la respuesta de las especies a la fragmentación puede variar dependiendo del nivel de deforestación en su entorno (por ejemplo, Fahrig, 2013; Hill y Curran, 2005). Por lo tanto, la consideración del porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante en los estudios en sistemas altamente fragmentados adquiere gran relevancia puesto que el valor de conservación de los fragmentos de bosque puede depender también de la proporción total de cobertura forestal en el paisaje en el que se sitúan (Arroyo-Rodríguez et al., 2008).

Por otra parte, es necesario considerar los efectos de los herbicidas que son utilizados habitualmente en la mayoría de los sistemas modernos de cultivo (Egan et al., 2014). Dada la naturaleza sintética de los mismos, su concentración, la forma de aplicación y sus interacciones con el medio, es posible que la exposición periódica a los mismos pueda afectar a muchas especies de plantas nativas y animales que viven en remanentes de hábitats semi-naturales (Gove et al., 2007). De esta forma, la vegetación de los fragmentos de bosque puede verse directamente afectada por el proceso de fragmentación y pérdida de bosques o será afectada, indirectamente, por las consecuencias de este proceso en el grado de exposición de la vegetación a los herbicidas utilizados en las matrices de cultivo.

Los herbicidas y los retardadores del crecimiento han causado cambios en la composición de las especies, cuando se aplican en las dosis recomendadas (Balme, 1954, 1956; Marrs, 1985; Marshall, 1988; Marshall y Birnie, 1985; Parr y Way, 1984; Willis, 1988; Yemm y Willis, 1962) aunque ha habido pocos estudios sobre los efectos de las dosis subletales que surgen de las pulverizaciones sobre las especies de plantas nativas no-blanco. La mayoría de las investigaciones se han centrado en los factores físicos que afectan la dispersión del rociado, por ejemplo, el espectro de tamaño de gota producido por diferentes pulverizadores, o el efecto de diversos factores meteorológicos, como la velocidad del viento, la temperatura, la humedad y la precipitación (Elliott y Wilson, 1983; Hartley y Graham-Bryce, 1980; Joyce, 1985; Joyce y Spillman, 1979; Matthews, 1979; Pasquill y Smith, 1983; Quantick, 1985; Williams et al., 1987). Varios intentos se han realizado con el objetivo de producir modelos de deposición de deriva de agroquímicos relativos a la distancia y la dirección del viento desde el pulverizador (Arvidsson, 1985; Byass y Lake, 1977; Grover et al., 1978; Nordby y Skuterud, 1975; Yates et al., 1978; Williams et al., 1987). En resumen, y en contraste con estas investigaciones relativas a mejorar la eficiencia de la aplicación de

herbicidas sobre los cultivos, casi no hay información sobre los posibles efectos biológicos de la deriva de los herbicidas sobre las poblaciones de plantas nativas no-blanco (Marrs, 1989).

Por otra parte, tanto la diversidad como la supervivencia de las especies en ambientes fragmentados pueden estar condicionadas por atributos biológicos de las especies que les confieren particular vulnerabilidad a la fragmentación de su hábitat (por ejemplo, Galetto et al., 2007; Haila, 2002; Kemper et al., 1999). Entre esos atributos, algunos trabajos han evaluado la sensibilidad de diferentes grupos de organismos a herbicidas tales como el glifosato, observando diferentes niveles de daño según las especies (Guiseppe et al., 2006). Se ha visto que muchas plantas se ven afectadas ante la exposición a estas sustancias (Sullivan y Sullivan, 2003), existiendo, en algunos casos, una disminución en la diversidad de especies bajo la influencia de herbicidas (Sullivan et al., 1996). Además, dado que la vegetación está más expuesta al contacto con herbicidas en las áreas de borde de los fragmentos de bosque (De Snoo y Van der Poll, 1999; Roy et al., 2003), la sensibilidad de las especies a estas sustancias puede determinar la selección de biotipos poblacionales con distinto grado de sensibilidad y, en cierta medida, explicar las diferencias en la diversidad, composición y supervivencia de las especies entre el interior y los bordes de los remanentes de bosque o entre fragmentos con distinto tamaño o distinto porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante.

En los últimos años se han realizado numerosos estudios sobre procesos relacionados con la reproducción y supervivencia de especies vegetales en ambientes fragmentados del Bosque Chaqueño de Córdoba (por ej., Aguilar y Galetto, 2004; Aguilar et al. 2006; Aizen et al. 2002; Ashworth et al., 2004; Ferreras et al., 2008; Galetto et al., 2007; Grilli y Galetto, 2009; Grilli et al., 2013) y, a su vez, existen cada vez más antecedentes que indican efectos toxicológicos severos del glifosato sobre diversos organismos no-blanco (Cuhra, 2016; Martínez-Ghersa, 2011). En cambio, es aún poco lo que se conoce acerca de cómo las modificaciones ambientales producidas por la fragmentación del bosque y las prácticas agrícolas en la matriz de cultivos influyen sobre la biodiversidad de los remanentes de bosque, y particularmente, sobre la diversidad, composición y supervivencia de las plantas nativas.

Considerando los antecedentes previamente expuestos, es probable que, entre otros factores, el tamaño de los fragmentos, el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje que los circunda y la sensibilidad de las especies a los herbicidas, condicionen la diversidad, composición y supervivencia de las plantas en los remanentes de bosque nativo inmersos en los agroecosistemas. En este capítulo se intentará integrar los

resultados experimentales presentados en los Capítulos I y III, en donde se determina la sensibilidad al glifosato de un conjunto de 35 especies de plantas vasculares nativas, con el análisis de la diversidad y supervivencia de esas especies en los fragmentos de Bosque Chaqueño estudiados (Capítulo IV). En este sentido, el objetivo principal propuesto en este capítulo es analizar las relaciones entre la diversidad, composición y supervivencia de especies de plantas vasculares nativas presentes en fragmentos de Bosque Chaqueño y: i) la sensibilidad de las plantas al glifosato y ii) el grado de exposición a este herbicida (considerando el área de los fragmentos de bosque y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento).

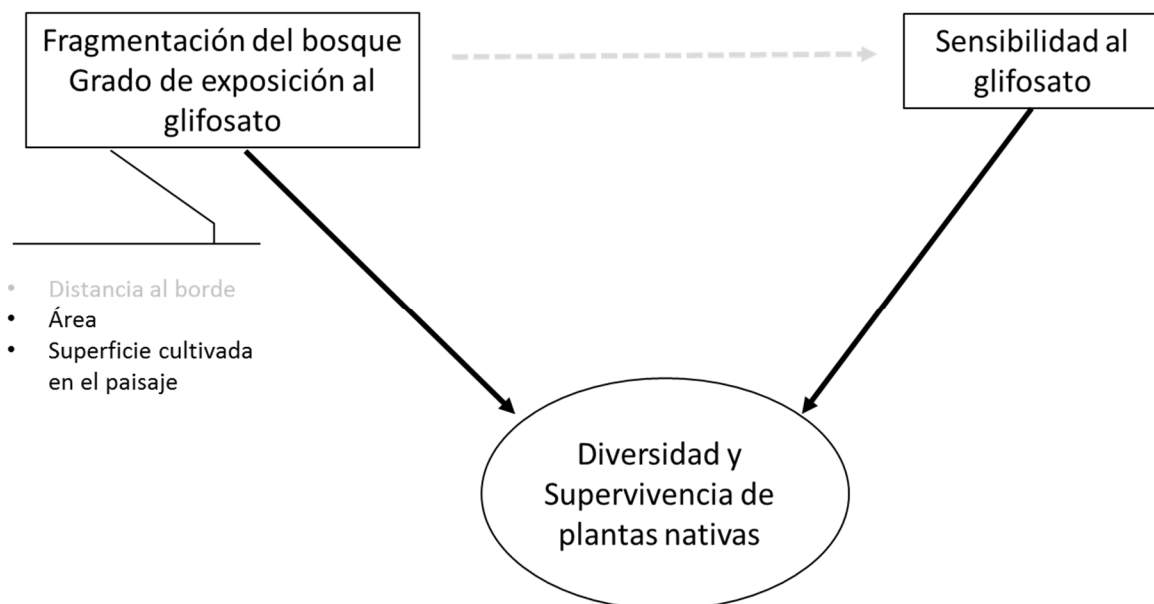


Figura 1. Modelo conceptual que describe las relaciones esperadas entre la diversidad y la supervivencia de las plantas vasculares nativas en los fragmentos de bosque estudiados y el grado de fragmentación del bosque, el grado de exposición al glifosato y la sensibilidad de las plantas nativas al herbicida. Se resaltan los factores y las variables que serán analizadas en el Capítulo V para analizar las relaciones con la diversidad y la supervivencia de las plantas nativas en las comunidades estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. *Especies estudiadas*

En este capítulo, se focalizó el estudio de las relaciones entre la diversidad y supervivencia de las especies nativas y el grado de exposición a los herbicidas y la sensibilidad de las especies al glifosato, en el conjunto de 35 especies en las cuales se determinó el Índice de Sensibilidad al glifosato (IS) (Capítulo I y III), (Tabla 5.1). Este número total de especies focales resulta de la sumatoria de especies analizadas en la etapa experimental del Capítulo I (23 especies) y del Capítulo III (se agregan 12 especies nuevas que no fueron estudiadas en el Capítulo I). Para el caso de las especies que estuvieron presentes en ambos experimentos (Capítulo I y III), el valor de Índice de Sensibilidad considerado en el presente capítulo fue calculado como el promedio entre los valores obtenidos en cada uno de los experimentos.

Dado que este grupo de 35 especies focales, consideradas en los tratamientos con glifosato, mostraron Índices de Sensibilidad menores a 4 en la mayoría de los casos (solo 8 especies presentaron un IS mayor a 4), en este capítulo, el criterio considerado para separar las especies en dos categorías de sensibilidad fue el valor de $IS = 3$. De esta forma, las 35 especies quedaron divididas en dos grupos: i) IS menor a 3 = Índice bajo de sensibilidad (especies sensibles al glifosato), ii) IS mayor a 3 = Índice alto de sensibilidad (especies tolerantes al glifosato).

Tabla 5.1. Sensibilidad al glifosato de 35 especies de plantas nativas registradas en fragmentos de Bosque Chaqueño. La tabla muestra el total de especies (considerando en conjunto los Capítulos I y III de la presente Tesis) y su correspondiente Índice de Sensibilidad al glifosato (IS). También se indica el código utilizado para identificar a cada especie en los análisis NMDS. Se separó a las especies en dos grupos: a) especies con IS menor a 3 = especies sensibles (su código comienza con B), b) especies con IS mayor a 3 = especies tolerantes (su código comienza con A). Las especies fueron ordenadas en forma decreciente de sensibilidad al glifosato, según su valor de IS.

Especie	IS	Código
<i>Bidens subalternans</i>	1,00	B1
<i>Solanum argentinum</i>	1,04	B2
<i>Passiflora morifolia</i>	1,36	B7
<i>Amelichloa brachychaeta</i>	1,40	B8
<i>Piptochaetium</i> sp.	1,44	B9
<i>Ipomoea nil</i>	1,48	B10
<i>Solanum palinacanthum</i>	1,48	B12
<i>Baccharis glutinosa</i>	1,56	B6
<i>Cyperus</i> sp.	1,64	B14
<i>Paspalum malacophyllum</i>	1,67	B18
<i>Gouinia latifolia</i>	1,72	B16
<i>Exhalimolobos weddellii</i>	1,94	B13
<i>Celtis ehrenbergiana</i>	2,00	B4
<i>Fleishmannia prasiifolia</i>	2,04	B5
<i>Setaria hunzikeri</i>	2,34	B17
<i>Setaria parviflora</i>	2,44	B15
<i>Setaria pampeana</i>	2,48	B11
<i>Dysphania ambrosioides</i>	2,68	B20
<i>Chromolaena hookeriana</i>	2,94	B3
<i>Schinus fasciculatus</i>	2,95	B19
<i>Jarava ichu</i>	3,07	A6
<i>Bouteloua curtipendula</i>	3,10	A5
<i>Rivina humilis</i>	3,25	A2
<i>Abutilon pauciflorum</i>	3,44	A13
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	3,46	A7
<i>Iresine diffusa</i>	3,81	A3
<i>Rhynchosia edulis</i>	4,00	A8
<i>Sida rhombifolia</i>	5,50	A12
<i>Ipomoea purpurea</i>	5,81	A1
<i>Malvastrum interruptum</i>	5,96	A15
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	6,00	A9
<i>Sida spinosa</i>	7,41	A4
<i>Sida dyctiocarpa</i>	7,93	A14
<i>Acacia aroma</i>	12,80	A10
<i>Amphilophium carolinae</i>	15,19	A11

2. *Diseño de muestreos y variables analizadas*

Los sitios de muestreo del presente Capítulo se describen en la sección Materiales y Métodos Generales. En esa sección también se describe la metodología utilizada para la

categorización de dichos sitios según el área y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada uno de estos fragmentos de bosque.

La metodología utilizada para medir densidad de individuos por especie y supervivencia se detalla en el Capítulo IV. En el mismo, se muestran los resultados obtenidos para estas variables en cada una de las 35 especies consideradas en este Capítulo. También se muestran allí los valores de densidad de individuos para el conjunto de todas las especies de plantas vasculares registradas en cada sitio, a partir de los cuales se calculó la densidad relativa de individuos de cada una de las 35 especies consideradas en este capítulo.

3. *Análisis de datos*

Con el fin de analizar las relaciones entre la variabilidad observada en la diversidad y supervivencia de las 35 especies consideradas en este Capítulo y: i) el área de los fragmentos de bosque estudiados, ii) el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento de bosque y iii) la sensibilidad de las especies al glifosato, se ajustaron modelos lineales generalizados (GLM por sus siglas en inglés) para las variables de respuesta densidad relativa de individuos por especie y supervivencia. Estos análisis contemplaron como efectos fijos al tamaño de los fragmentos (pequeños, medianos y grandes), porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada uno de ellos (alto y bajo) y el Índice de Sensibilidad de las especies (alto y bajo). Los modelos GLM se ajustaron mediante la utilización del programa estadístico R v.2.15.0 (R Core Development Team 2015).

Para realizar el análisis de las relaciones entre la variabilidad observada en la composición de las 35 especies consideradas en este capítulo y: i) el área de los fragmentos de bosque estudiados, ii) el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada fragmento de bosque y iii) la sensibilidad de las especies al glifosato, se llevaron a cabo análisis de escalamiento multidimensional (NMDS por sus siglas en inglés: non-metric multidimensional scaling) y, posteriormente, Análisis de la varianza con Permutaciones (PERMANOVA); utilizando el programa estadístico R v.2.15.0 (R Core Development Team 2015).

RESULTADOS

1. *Densidad de individuos por especie en los fragmentos de bosque*

Se elaboraron gráficos de dispersión para cada una de las 35 especies consideradas en este capítulo y se ajustaron modelos lineales generalizados (GLM) a fin de evaluar gráfica y analíticamente las relaciones existentes entre la densidad de individuos en los fragmentos de bosque y los factores considerados: área de los sitios de estudio, porcentaje de superficie cultivada y sensibilidad de las especies. El detalle de la densidad de individuos para cada especie estudiada en relación a los factores considerados, puede visualizarse gráficamente en el Apéndice I.

No se detectaron relaciones estadísticamente significativas, según el análisis de GLM, entre la densidad relativa de individuos por especie y el área de los fragmentos de bosque estudiados, ni tampoco con el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a los sitios (Tabla 5.2; Figuras 5.7 y 5.8). En cambio, al analizar los valores de densidad relativa en relación a la sensibilidad de las especies al glifosato, se encontraron relaciones estadísticamente significativas (Tabla 5.2). Las especies más tolerantes presentaron una densidad relativa de individuos mayor respecto a las especies más sensibles.

Tabla 5.2 Análisis de Modelos Lineales Generalizados: Los datos corresponden al análisis GLM comparando la densidad relativa de individuos de 35 especies de plantas vasculares nativas. Este análisis contempló como efectos fijos al tamaño de los fragmentos de bosque (pequeños, medianos y grandes), el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante de cada uno de ellos (alto y bajo) y el valor del Índice de Sensibilidad al glifosato de las especies (alto y bajo). Especies sensibles (IS bajo, menor a 3) y Especies tolerantes (IS alto, mayor a 3; confrontar Tabla 5.1). Se muestra el modelo que resultó seleccionado según los criterios de AIC y BIC más bajos.

Medidas de ajuste del modelo					
N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0
700	6954,1	7013,03	-3464,05	35,95	0,02

	gl	denDF	F-valor	p-valor
1 Sup. cultivada	1	688	0,06	0,8114
2 Tamaño de fragmentos	2	688	0,58	0,5619
3 IS	1	688	7,17	0,0076
4 Sup. cultivada: Tamaño fragmento	2	688	1,61	0,201
5 Sup. cultivada: IS	1	688	0,12	0,7335
6 Tamaño fragmento: IS	2	688	0,07	0,9344
7 Sup.cultivada: Tamaño fragmento: IS	2	688	0,08	0,9197

Índice de Sensibilidad (IS)	Medias	E.E.	
Alto	15,89	2,5	A
Bajo	7,02	2,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

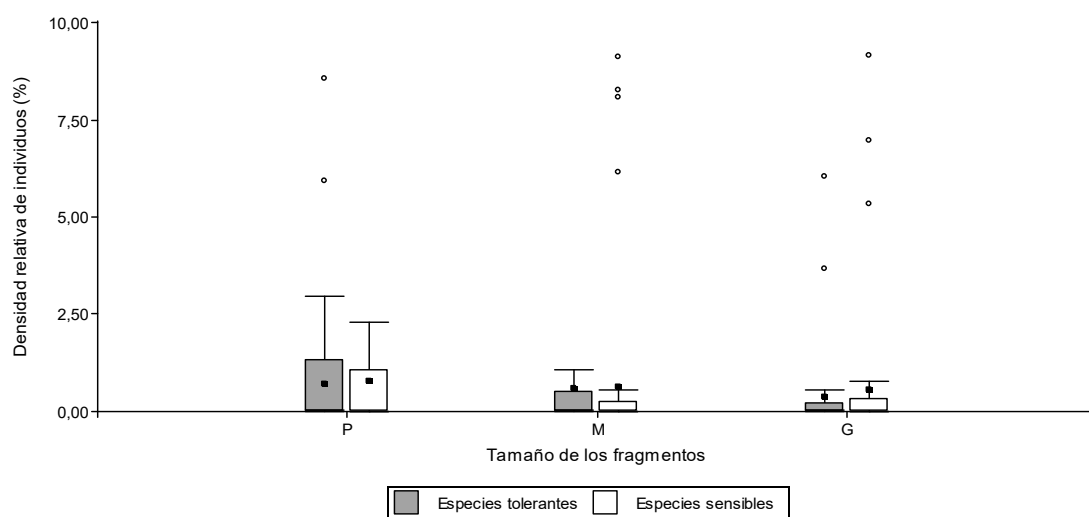


Figura 5.7. Densidad relativa de individuos de 35 especies de plantas vasculares nativas que viven en 20 fragmentos de bosque nativo de diferente tamaño (P= pequeños, M= medianos y G= grandes). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de IS: Especies sensibles (IS menor a 3) y Especies tolerantes (IS mayor a 3).

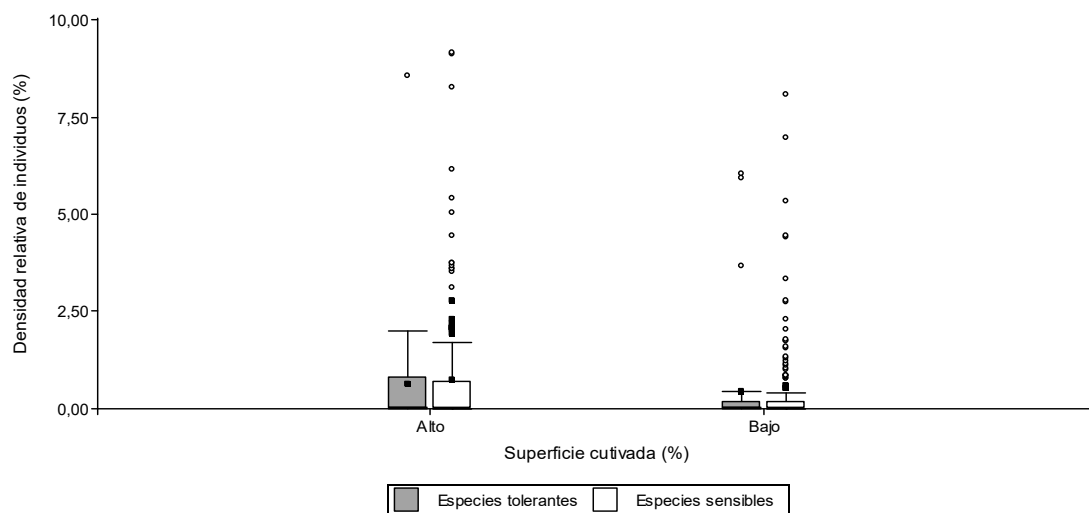


Figura 5.8. Densidad relativa de individuos de 35 especies de plantas vasculares nativas que viven en 20 fragmentos de bosque nativo con diferente porcentaje (alto y bajo) de superficie cultivada en el paisaje circundante (alto y bajo). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de su IS: Especies sensibles (IS menor a 3) y Especies tolerantes (IS mayor a 3).

2. *Supervivencia de plantas nativas*

Los valores promedio de supervivencia de las 35 especies vasculares nativas oscilaron entre 0% y 100%. En los gráficos de dispersión no se observó una tendencia definida entre los valores de supervivencia y el área y la superficie cultivada en el paisaje circundante. El detalle de la supervivencia para cada especie estudiada puede visualizarse gráficamente en el Apéndice I.

Luego de ajustar un GLM, se observó que las relaciones entre los valores de supervivencia y los tres factores considerados (tamaño de los fragmentos de bosque, porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante y valores del Índice de Sensibilidad al glifosato), no mostraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5.3; Figuras 5.9 y 5.10).

Tabla 5.3 Análisis de Modelos Lineales Generalizados: Los datos corresponden al análisis GLM comparando la supervivencia de 35 especies de plantas vasculares nativas. Este análisis contempló como efectos fijos al tamaño de los fragmentos (pequeños, medianos y grandes), el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante a cada uno de ellos (alto y bajo) y el Índice de

Sensibilidad al glifosato de las especies (alto y bajo). Especies sensibles (IS bajo, menor a 3) y Especies tolerantes (IS alto, mayor a 3; confrontar Tabla 5.1). Se muestra el modelo que resultó seleccionado según los criterios de AIC y BIC más bajos.

Medidas de ajuste del modelo							
N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	F-valor	p-valor
402	3697,57	3749,13	-1835,79 gl	25,45 denDF	0,03		
1 IS				1 390	0,03		0,8572
2 Tamaño de fragmento				2 390	1,88		0,1546
3 Sup. cultivada				1 390	2,53		0,1126
4 IS: Tamaño de fragmento				2 390	0,79		0,453
5 IS: Sup. cultivada				1 390	0,12		0,729
6 Tamaño de fragmento: Sup.cultivada				2 390	3,44		0,0331
7 IS: Tamaño de fragmento: Sup.cultivada				2 390	0,62		0,5385

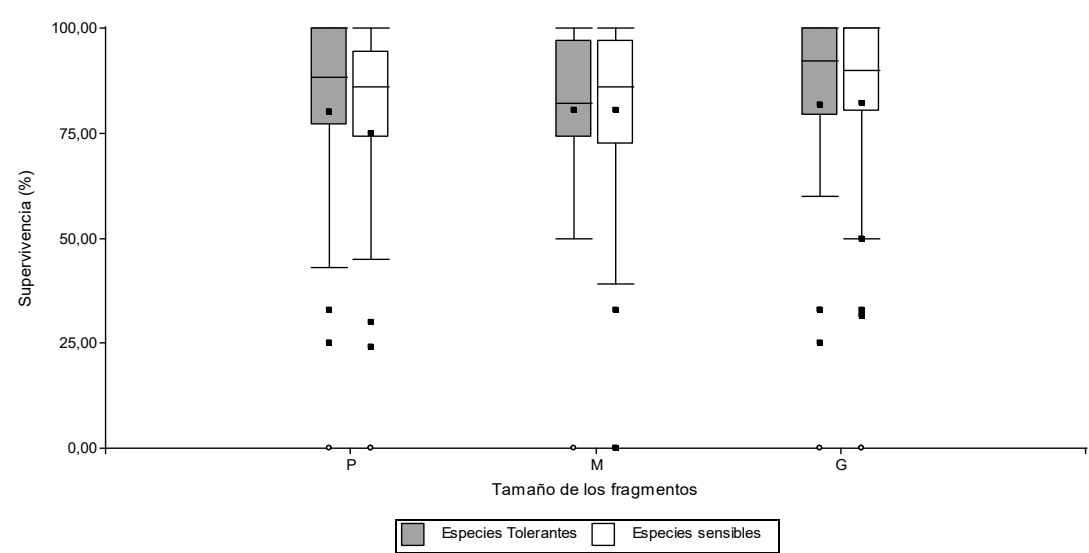


Figura 5.9. Supervivencia promedio de 35 especies de plantas vasculares nativas que viven en 20 fragmentos de bosque nativo de diferente tamaño (P= pequeños, M= medianos y G= grandes). Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de IS: Especies sensibles (IS menor a 3) y Especies tolerantes (IS mayor a 3).

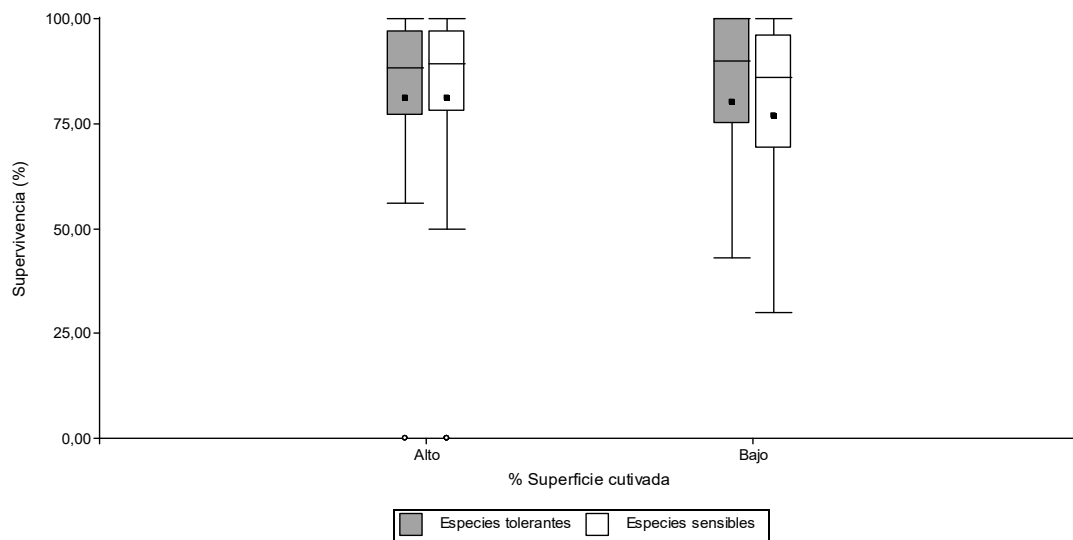


Figura 5.10. Supervivencia promedio de 35 especies de plantas vasculares nativas que viven en 20 fragmentos de bosque nativo con diferente porcentaje (alto y bajo) de superficie cultivada en el paisaje circundante. Las especies fueron divididas en dos grupos, según el valor de IS: Especies sensibles (IS menor a 3) y Especies tolerantes (IS mayor a 3).

3. *Composición de especies*

Luego de llevar a cabo un análisis de escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS), considerando las 35 especies en que se determinó experimentalmente su sensibilidad al glifosato, se pudieron evidenciar diferencias en la composición de especies entre los sitios estudiados, según la categoría de tamaño de los fragmentos de bosque. Luego de llevar a cabo un análisis de la varianza con permutaciones (PERMANOVA), se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la composición de las 35 especies focales, entre fragmentos de tamaño pequeño y grande ($F_{(2)} = 0,17$; $p = 0,03$). Se puede observar que el polígono que agrupa a los fragmentos pequeños presenta una leve superposición con el polígono de los fragmentos grandes, indicando una composición de especies, en su mayoría, diferente (Figura 5.1). En cambio, el polígono que agrupa a los fragmentos medianos presenta una composición de especies, en su mayoría, compartidas con las otras dos categorías de tamaño, dada la mayor superposición de los polígonos (Figura 5.1).

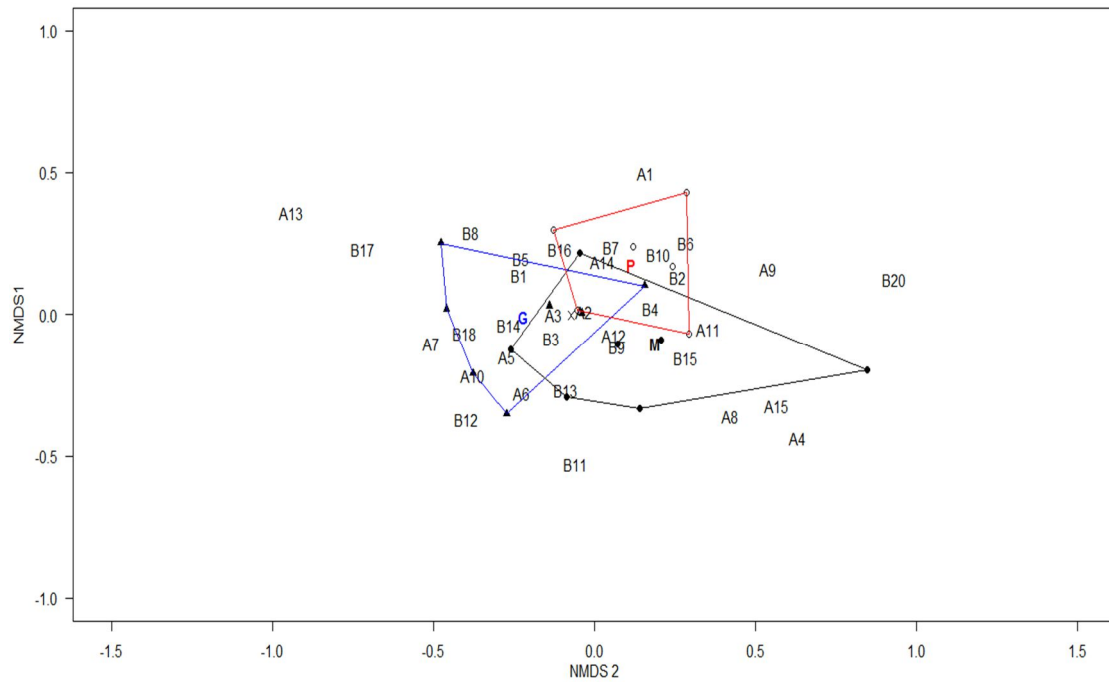


Figura 5.1. Análisis de la composición de 35 especies de plantas vasculares nativas a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los sitios según su categoría de tamaño: **Pequeños** (rojo), **Medianos** (negro) y **Grandes** (azul). Las letras A indican especies con valores altos de Índice de Sensibilidad (IS) (i.e., especies tolerantes), y las letras B indican especies con valores bajos de IS (i.e., especies sensibles).

Por otro lado, también se observó una variación significativa en la composición de las 35 especies vegetales focales entre sitios con alto y bajo porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante ($F_{(1)} = 2,55$; $p = 0,001$) (Figura 5.2).

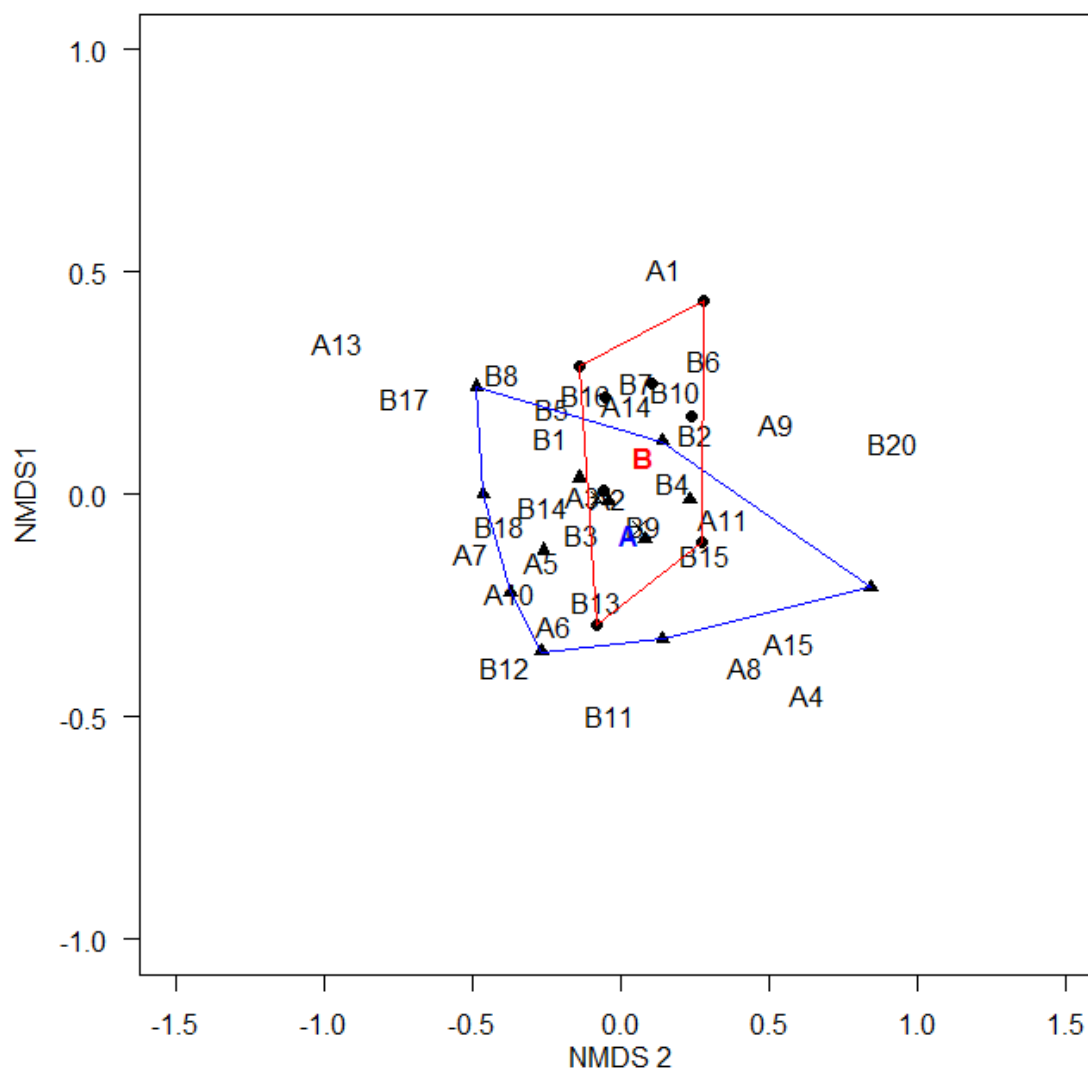


Figura 5.2. Análisis de la composición de 35 especies de plantas vasculares nativas a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los sitios según el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante: azul = Alto y rojo = Bajo porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante. Las letras A indican especies con valores altos de Índice de Sensibilidad (IS) (i.e., especies tolerantes), y las letras B indican especies con valores bajos de IS (i.e., especies sensibles).

3.1 Sensibilidad al glifosato

Para realizar un análisis detallado y más profundo en este conjunto de especies, se realizaron análisis adicionales, separando las especies en dos grupos: a) especies categorizadas como muy sensibles al glifosato (valores de IS menores a 3, aún con dosis inferiores a la utilizada habitualmente en el campo) y b) especies categorizadas como tolerantes al glifosato (con valores de IS superiores a 3).

3.1.1. Especies sensibles

Luego de llevar a cabo el análisis de escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS), no se observaron diferencias en la composición de especies en los sitios estudiados, según su categoría de tamaño. Si bien estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas, luego de llevar a cabo un análisis de la varianza con permutaciones (PERMANOVA) ($F_{(2)}=0,159$; $p=0,075$), se pudo observar gráficamente que los fragmentos pequeños presentaron una composición de especies que se diferenció más de aquella correspondiente a la de los fragmentos grandes, mientras que la composición de los fragmentos medianos se encontró mucho más superpuesta con los polígonos de las otras dos categorías (Figura 5.3).

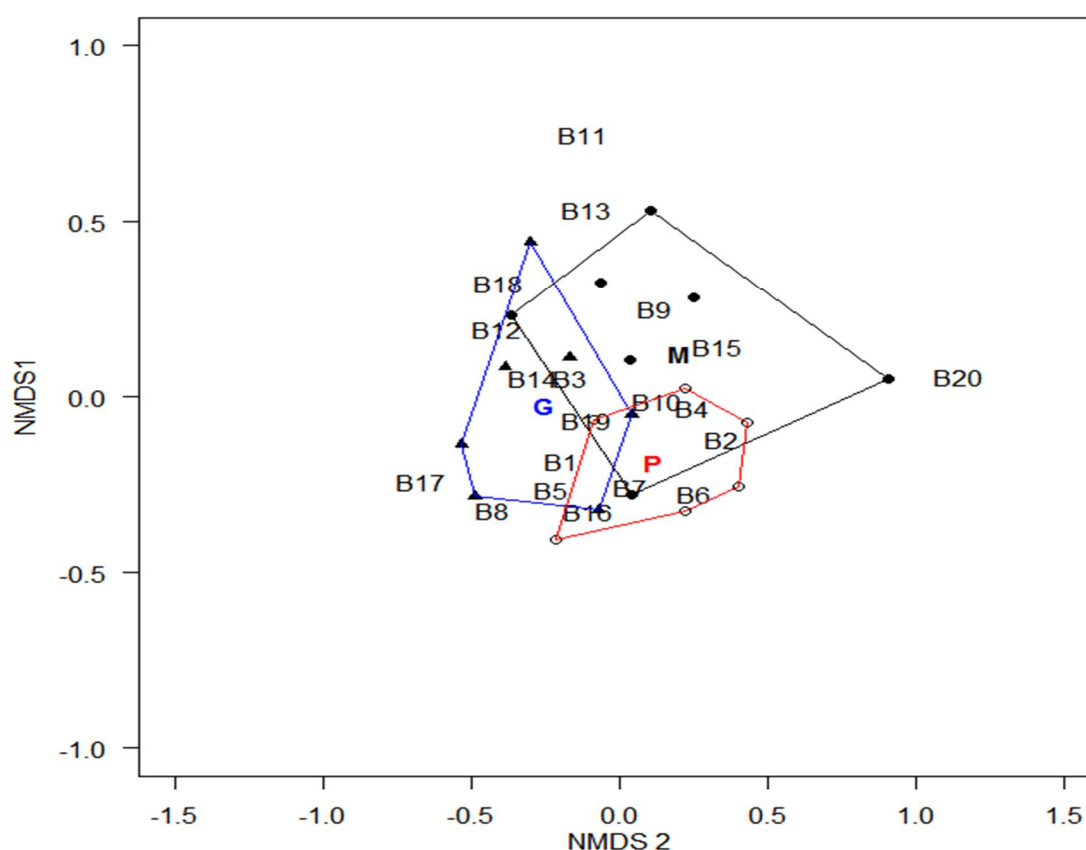


Figura 5.3. Análisis de la composición de 20 especies de plantas vasculares nativas muy sensibles al glifosato (grupo codificado con la letra B) a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los sitios según su categoría de tamaño: Pequeños (rojo), Medianos (negro) y Grandes (azul).

Al analizar la composición de especies sensibles entre sitios con diferente porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante, se evidenció una relación estadísticamente significativa ($F_{(1)}=0,107$; $p=0,03$), en cuanto a su composición, observándose una mayor

densidad de especies en los fragmentos de bosque rodeados por altos porcentajes de superficie cultivada (Figura 5.4).

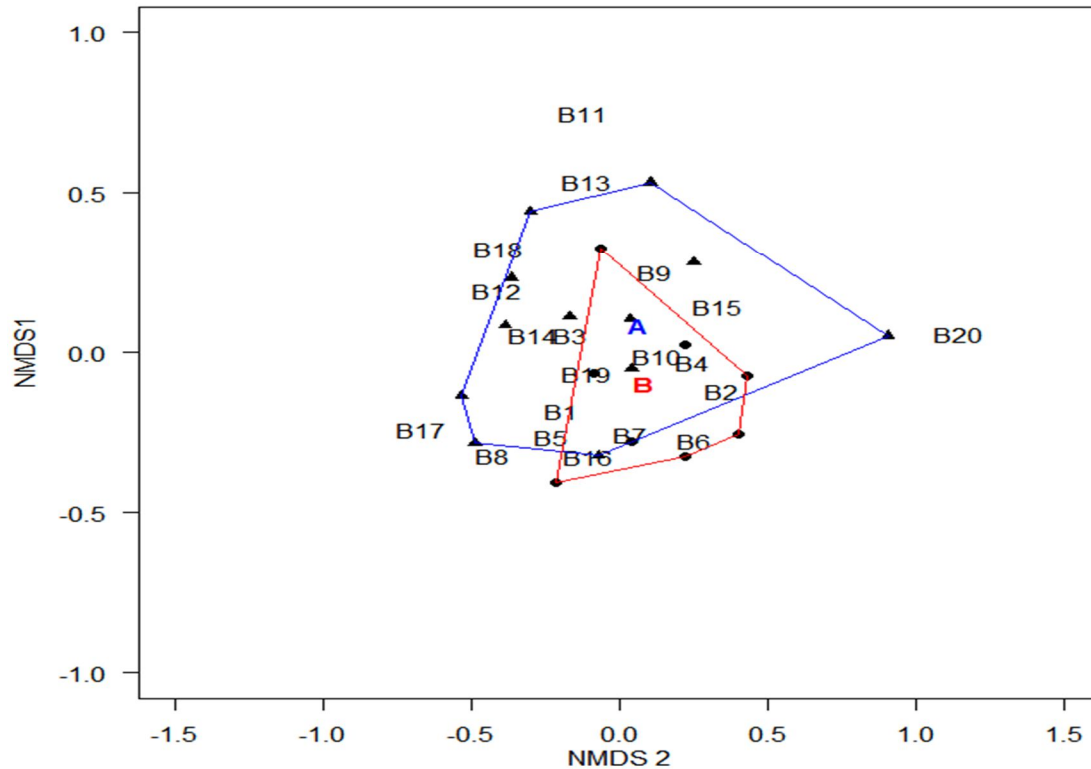


Figura 5.4. Análisis de la composición de 20 especies de plantas vasculares nativas muy sensibles al glifosato (grupo codificado con la letra B) a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los sitios según su porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante: sitios con **Alto** (azul) y **Bajo** (rojo) porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante.

3.1.2. Especies tolerantes

En el análisis NMDS se encontraron diferencias significativas en la composición de especies tolerantes al glifosato ($F_{(2)} = 0,178$; $p = 0,036$) (Figura 5.5). Se puede observar gráficamente que los fragmentos pequeños presentaron una composición de especies que se diferenció más de aquella correspondiente a la de los fragmentos grandes, mientras que la composición de los fragmentos medianos se encontró mucho más superpuesta con los polígonos de las otras dos categorías (Figura 5.5).

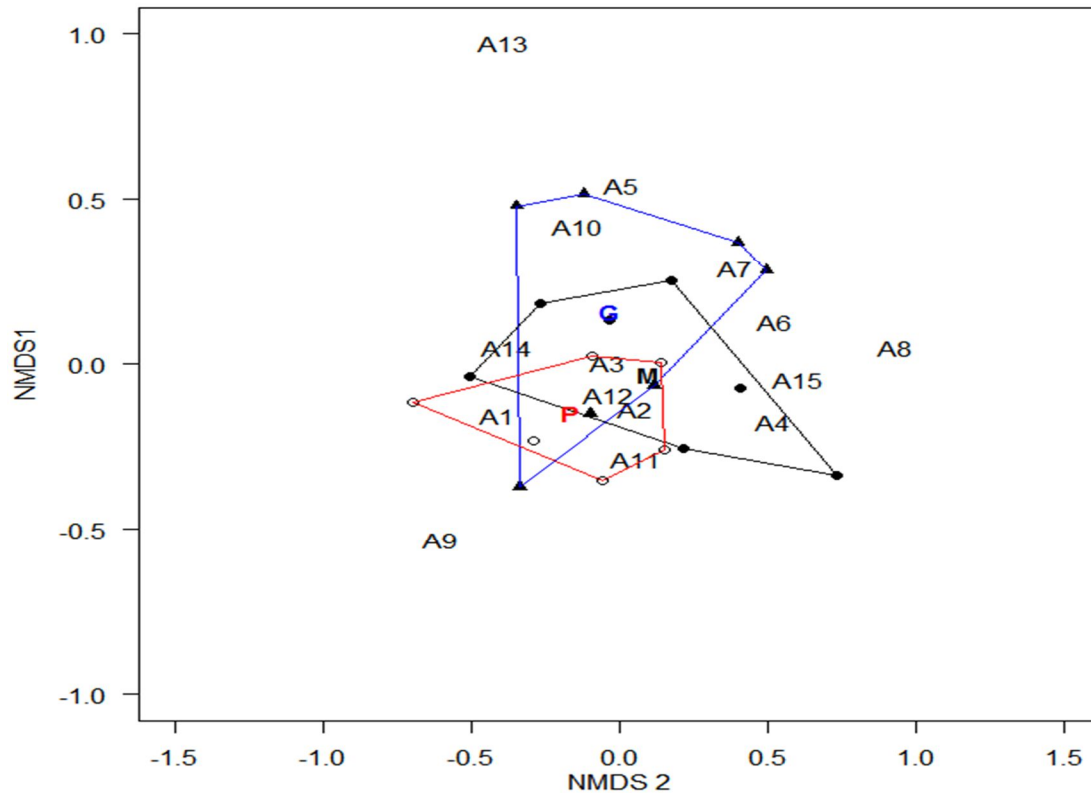


Figura 5.5. Análisis de la composición de 15 especies de plantas vasculares nativas tolerantes a glifosato (grupo codificado con la letra A) a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los fragmentos de bosque pertenecientes a la misma categoría de tamaño: **Pequeños** (rojo), **Medianos** (negro) y **Grandes** (azul).

También se encontraron diferencias significativas al evaluar la composición de especies tolerantes según el grado de superficie cultivada en el paisaje alrededor de los remanentes de bosque ($F_{(1)} = 0,152$; $p = 0,004$), observándose una mayor densidad de especies en los fragmentos con alto porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante (Figura 5.6).

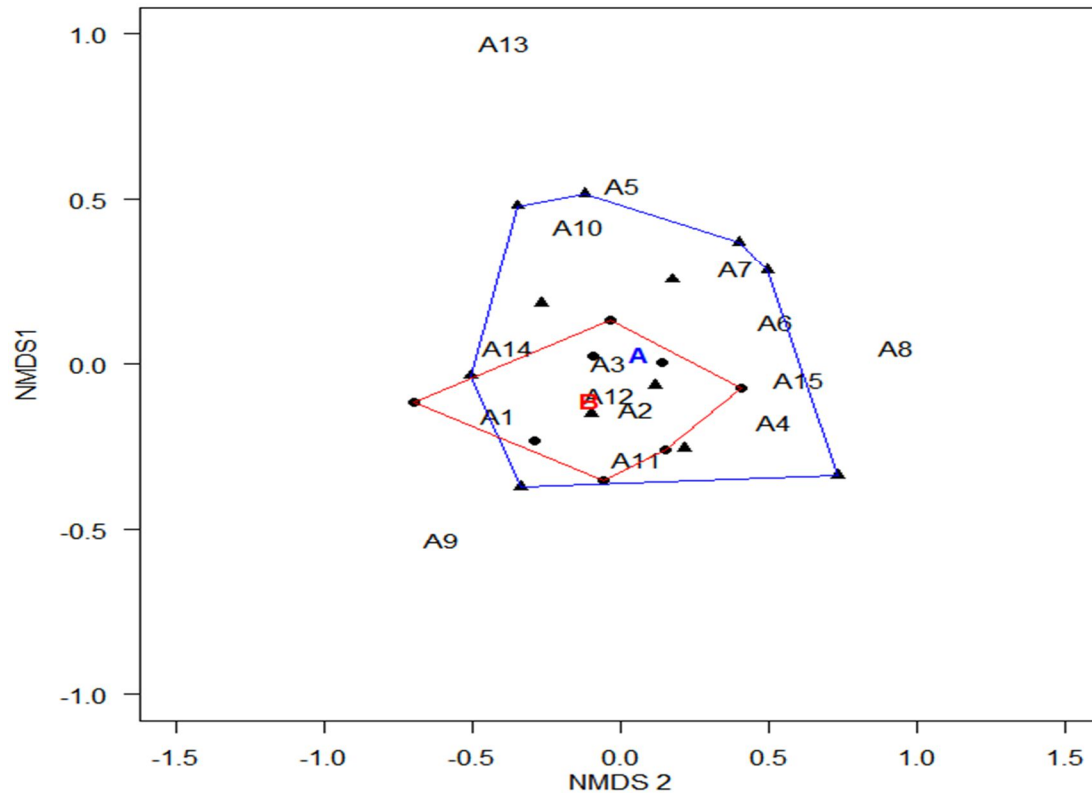


Figura 5.6. Análisis de la composición de 15 especies de plantas vasculares nativas tolerantes al glifosato (grupo codificado con la letra A) a través de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para los 20 sitios de estudio. Los polígonos agrupan los sitios según su porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante: sitios con Alto (azul) y Bajo (rojo) porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante.

DISCUSIÓN

En el presente capítulo investigamos acerca de los impactos del herbicida glifosato en varias especies de plantas comunes del Bosque Chaqueño. Treinta y cinco especies de plantas nativas del bosque fueron expuestas a un gradiente de concentraciones de glifosato, el cual incluyó dosis equivalentes a la recibida por las plantas por deriva de las pulverizaciones (Gove, 2004). Estas especies de plantas nativas del bosque fueron seleccionadas de modo tal de poder representar una gama de características, incluyendo diferentes familias botánicas, morfologías e historias de vida. En los Capítulos I y III las 35 especies fueron sometidas al tratamiento con dosis crecientes de glifosato, para poder determinar así su sensibilidad al herbicida, y, en base a ello, se dividieron las especies en dos grupos en función a su respuesta al glifosato: especies sensibles y especies tolerantes.

Los resultados obtenidos en este capítulo permitieron analizar las relaciones entre las variaciones de la diversidad, la composición y la supervivencia de este grupo de especies de plantas nativas que viven en remanentes de Bosque Chaqueño, en relación con el grado de exposición al glifosato y el nivel de sensibilidad de las plantas a este herbicida.

Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se evaluó la densidad de individuos de las especies nativas en relación a la sensibilidad al glifosato de cada especie. En este sentido, se observó que, en los fragmentos de Bosque Chaqueño estudiados, las especies menos sensibles al herbicida presentaron una mayor densidad de individuos que las especies más sensibles.

En un estudio experimental previo, Gove et al. (2007) probaron la sensibilidad al glifosato en un grupo de plantas no-blancas y las dividieron en tres grupos de acuerdo a su respuesta, como especies con alta, media y baja sensibilidad. Si bien encontraron menor abundancia de todas las especies en los márgenes de los bosques adyacentes a los campos de cultivo (con un elevado uso de agroquímicos), la abundancia del grupo de especies más sensibles al herbicida, fue significativamente menor en los márgenes (hasta 4m hacia el interior del bosque). La distribución del grupo de especies menos sensibles en los márgenes del bosque, no fue influenciada por el uso de agroquímico en los campos adyacentes. Incluso, algunas especies de este grupo presentaron mayor abundancia en el margen (hasta 2m hacia el interior del bosque). Estas diferencias también las hemos observado en nuestro trabajo, ya que, al separar las especies según su sensibilidad al herbicida, se pudieron apreciar

diferencias en la diversidad de especies de plantas entre los fragmentos con baja y alta exposición al glifosato. Se observó una mayor diversidad de especies sensibles en los fragmentos grandes, mientras que en los fragmentos pequeños se apreció una mayor diversidad de especies tolerantes al glifosato. De esta manera, algunas de las especies más tolerantes al gradiente de concentraciones de glifosato considerado en esta Tesis, como, por ejemplo, *Amphilophium carolinae*, *Ipomoea purpurea* y *Rivina humilis*, mostraron mayor densidad de individuos en los fragmentos de bosque pequeños. Por lo tanto, de acuerdo a los antecedentes previos (por ejemplo, Gove et al., 2007) y los resultados obtenidos en este Capítulo, es razonable pensar que las especies menos sensibles al glifosato, al ser más abundantes en los fragmentos de bosque más expuestos a la deriva de herbicidas que se utilizan en los agroecosistemas actuales, podrían haber desarrollado biotipos tolerantes o resistentes que les permiten sobrevivir en estos fragmentos de bosque tan disturbados.

En América del Norte, por ejemplo, se encontró que los márgenes de bosques adyacentes a campos de cultivo intensivo, tenían una menor diversidad y una mayor proporción de especies anuales (Boutin y Jobin 1998; Jobin et al., 1997). Es posible que cambios comunitarios de esta naturaleza puedan explicar la persistencia de especies menos sensibles (por ejemplo, *Amphilophium carolinae* e *Ipomoea purpurea*) en los fragmentos de bosque más pequeños y, por lo tanto, con una elevada exposición a la deriva de glifosato.

Por otro lado, se ha determinado que *Ipomoea purpurea*, exhibe variabilidad en la resistencia al glifosato (Baucom y Mauricio, 2008; Kuester et al., 2015), que es el ingrediente principal en el herbicida RoundUp®; actualmente, el herbicida más utilizado en la agricultura industrial (Fernández-Cornejo et al., 2014). Esta especie es considerada una maleza agrícola del maíz, el algodón y los cultivos de soja. Es un colonizador oportunista de hábitats perturbados (Kuester et al., 2015), y puede producir un gran número de semillas en condiciones de campo (entre 3.000 y 10.000 por individuo), las cuales pueden permanecer latentes durante aproximadamente 20 años en el suelo (Baskin y Baskin, 1998). Numerosos trabajos han considerado que *I. purpurea* posee resistencia de bajo nivel al glifosato (Culpepper, 2006), y se ha demostrado que esta resistencia (estimada como proporción de daño foliar) tiene una base genética aditiva y está bajo selección positiva en la presencia del herbicida (Baucom y Mauricio, 2008). Además, un experimento reciente de dosis-respuesta de 43 poblaciones muestreadas en EE.UU. demostró que algunas poblaciones de *I. purpurea* exhiben aproximadamente 100% de supervivencia después de la aplicación de la dosis de campo de RoundUp® (i.e., que poseen resistencia), mientras que otras poblaciones exhiben

una alta susceptibilidad (Kuester et al., 2015). Cuando se realizaron muestreos temporales con poblaciones de esta especie, se observó, además de un mosaico de resistencia a través del paisaje, que el nivel de la resistencia en esta especie ha aumentado con el tiempo, con poblaciones que mantuvieron la resistencia entre los años de muestreo y otras que exhibieron grandes aumentos de la resistencia, y que, por lo tanto, fueron más capaces de soportar la aplicación del herbicida (Kuester et al, 2015).

Por otro lado, Gove et al. (2007), en su estudio experimental, ha demostrado que varias especies de plantas nativas que viven en bosques, son muy sensibles a los herbicidas en dosis comparables a las que llegan a la vegetación no-blanco por deriva de las pulverizaciones, en términos de mortalidad, biomasa y producción de semillas.

De esta manera, a partir del conjunto de análisis realizados, y considerando los antecedentes recientes respecto a la evolución de resistencia de algunas especies que viven en los remanentes de bosque (Kuester et al, 2015), y la elevada sensibilidad al glifosato que presentan otras especies (Gove et al., 2007), es posible entender mejor las variaciones en la diversidad de plantas nativas en relación al grado de fragmentación de los Bosques Chaqueños y al manejo agronómico actual en los agroecosistemas.

Los resultados del presente Capítulo muestran, además, que, al analizar la composición de especies en los 20 fragmentos de bosque estudiados, se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre los fragmentos con alta y baja exposición al glifosato. De esta manera, es razonable pensar que la composición de especies en los bosques nativos puede verse afectada por la aplicación de herbicidas en las tierras agrícolas adyacentes. El diagrama NMDS de los 20 relictos de bosque de diferente tamaño, mostró una separación de los polígonos que agrupaban los sitios con alta y baja exposición al glifosato (fragmentos pequeños y grandes, respectivamente), y los sitios con alto y bajo porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante. Este resultado ilustra el efecto severo del herbicida en la densidad de individuos del conjunto de especies analizadas.

Los resultados obtenidos siguen la misma tendencia observada en trabajos previos realizados en otras regiones biogeográficas, en los cuales se describen efectos letales y sub-letales inmediatos de los agroquímicos en plantas no-blanco que viven en los márgenes de los bosques. Existen numerosos antecedentes que demuestran que los impactos más severos de la deriva de los herbicidas sobre los organismos no-blanco, están generalmente limitados a 10m del lugar de aplicación (Felsot et al., 1996; Marrs et al., 1989), aunque efectos sub-

letales sobre las plantas pueden ocurrir mucho más allá de esta distancia (Marrs et al., 1991b). Nuestros experimentos muestran que los impactos sub-letales de la deriva de herbicidas en las plantas del bosque adyacente dependen de cada especie, pero incluso concentraciones tan bajas como menos de $\frac{1}{4}$ de la dosis media de aplicación tienen efectos biológicamente significativos, afectando el crecimiento de especies sensibles, tales como *Bidens subalternans*. De esta manera, la deriva de herbicidas podría generar cambios en la composición de la comunidad vegetal (Marrs et al., 1991b; Marrs y Frost, 1997; Pitcairn et al., 1998, 2003; Pywell et al., 1996) a través de cambios en el crecimiento y la competencia entre especies por recursos limitantes, o a través de impactos diferenciales sobre la fecundidad y la producción de semillas (Gove et al., 2007). Esto puede ser particularmente relevante para especies indicadoras del estado de conservación de los bosques, las cuales suelen ser lentas para establecerse y tienen muy baja capacidad de dispersión (Hermy et al., 1999). Así, incluso si los impactos directos son negativos, las especies con baja sensibilidad, pueden beneficiarse indirectamente respecto a sus competidoras sensibles (Pywell et al., 1996). En consecuencia, considerando antecedentes recientes (Gove et al., 2007; Schmitz et al., 2014), y analizando los resultados obtenidos en la presente Tesis, se puede sugerir que las poblaciones de especies dañadas por las dosis bajas de herbicidas en situaciones de deriva, pueden disminuir a través del tiempo, debido a la interferencia competitiva de las especies menos afectadas (Marrs et al., 1989), promoviendo de esta forma la reducción de la diversidad vegetal en los fragmentos de bosque nativo. Es posible que los cambios de esta naturaleza en las comunidades puedan explicar la persistencia de especies, como *Amphilophium carolinae* e *Ipomoea purpurea* en los remanentes de bosque estudiados con alta exposición a los herbicidas.

Una de las ideas centrales de este Capítulo consistía en la posibilidad de encontrar relaciones positivas entre la supervivencia de las 35 especies estudiadas, la fragmentación del bosque, el porcentaje de superficie cultivada en los agroecosistemas y la sensibilidad al glifosato. Si bien los resultados obtenidos en esta sección, no permitieron apoyar estas hipótesis, diversos estudios sobre la flora y fauna remanente en los sistemas agropecuarios han evidenciado la capacidad de la biota autóctona para utilizar ambientes modificados por el hombre y mantenerse a través del tiempo (Sekercioglu et al., 2007; Tobar López y Casasola, 2007; Vandemeer y Perfecto, 2007; Vélchez et al., 2004). Nuestros resultados demuestran que el herbicida glifosato puede reducir la densidad de individuos de varias especies, aunque este agroquímico afecta a

cada especie de diferente manera. El herbicida causó predominantemente efectos sub-letales (efectos fitotóxicos) y la muerte del 100% de los individuos de algunas especies. Los efectos en la supervivencia de las especies requieren tiempo para ser medibles en las evaluaciones a campo, y se espera que estos efectos reduzcan el tamaño de las poblaciones a largo plazo.

Existe cierto consenso en la bibliografía específica relacionada con la deriva de agroquímicos, sobre las consecuencias a largo plazo de los desplazamientos de herbicidas hacia las plantas no-blanco. Entre estas consecuencias se destacan los cambios significativos en la composición de las especies y la reducción de la diversidad de especies en las comunidades vegetales nativas (Gove et al., 2007; Kleijn y Snoeijs, 1997; Riemens et al., 2009; Schmitz et al., 2014). Considerando estos estudios, es razonable pensar que las aplicaciones continuas de agroquímicos en los sitios de estudio estarían provocando cambios en la vegetación nativa, y, probablemente, conducirán a la desaparición de algunas especies más afectadas. Las poblaciones de especies muy sensibles al herbicida podrían extinguirse localmente. De esta forma, las especies más tolerantes podrían volverse dominantes en las comunidades después de varios años. En resumen, aunque no es posible confirmar la existencia de una relación causal entre la deriva de glifosato y los patrones observados en la diversidad y composición de especies de plantas vasculares nativas, el análisis conjunto de los resultados de los experimentos a campo y en invernadero, sugieren que la deriva de glifosato sería un factor importante que podría contribuir a explicar los patrones observados.

Considerando los resultados aquí encontrados, es posible sugerir que el sistema de manejo de malezas asociado a la soja resistente al glifosato podría conducir, por un lado, a la reducción de la complejidad del paisaje, a través de la pérdida paulatina de biodiversidad en los agroecosistemas. Por el otro, se estarían seleccionando biotipos tolerantes al glifosato convirtiendo la dinámica de los agroecosistemas en un círculo muy problemático también para este modelo vigente de producción agrícola industrial.

Es sabido que el Bosque Chaqueño de la Provincia de Córdoba ha sufrido históricamente un severo proceso de degradación a causa de una serie de disturbios ocasionados principalmente por la actividad del hombre (Gavier y Bucher, 2004; Zak et al., 2008). Este ecosistema posee una elevada tasa de fragmentación y pérdida de ambientes naturales desde hace más de 100 años (Morello et al., 2005; Torrella y Adámoli, 2006). Sólo queda el 4,9% de los 12 millones de hectáreas de bosque que había en Córdoba a principios del siglo XX (Barchuk et al., 2010). En este contexto, es fundamental garantizar la

conservación de todos los remanentes de bosque nativos porque desempeñan un papel importante en el paisaje agrícola, ya que proporcionan innumerables servicios ambientales, ecosistémicos y sociales como fuentes polinizadoras y polinización, formación de suelos y fertilidad, entre otros (IPBES, 2016). En consecuencia, sería razonable aplicar el Principio de Precaución sobre el uso real del glifosato en los agroecosistemas y la expansión de la agroindustria sobre los bosques del Chaco.

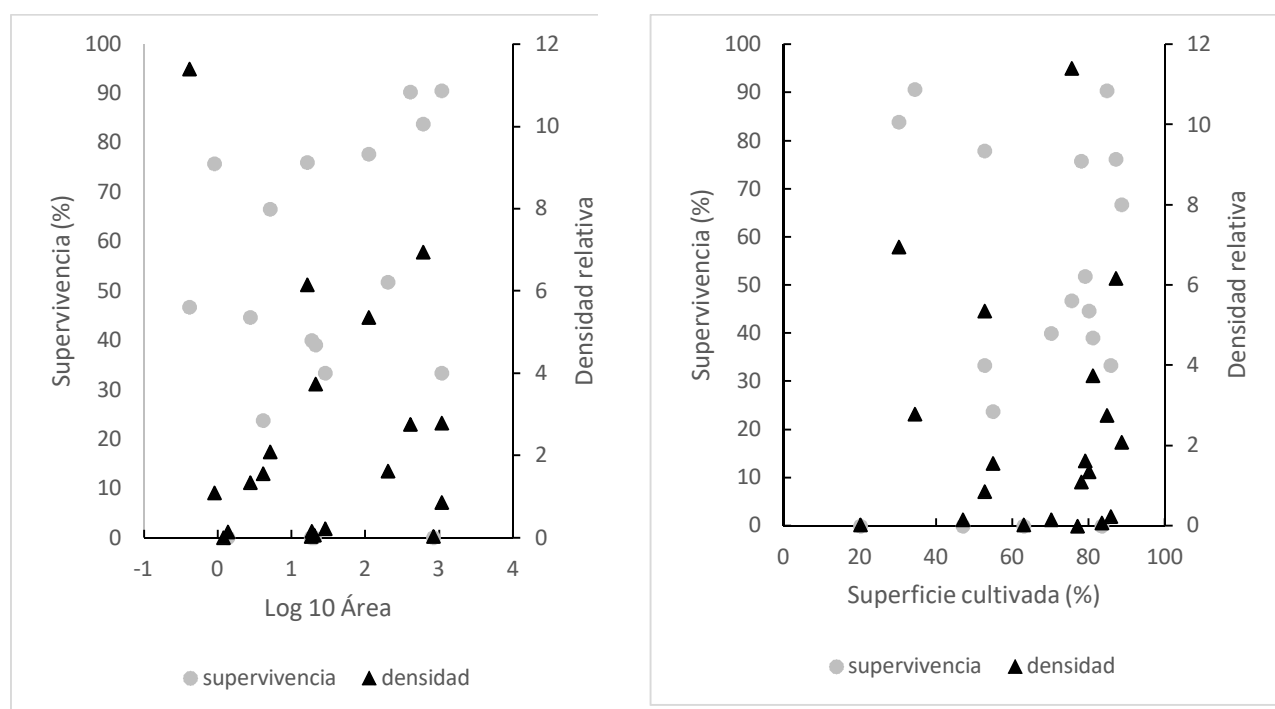
.

APÉNDICE I

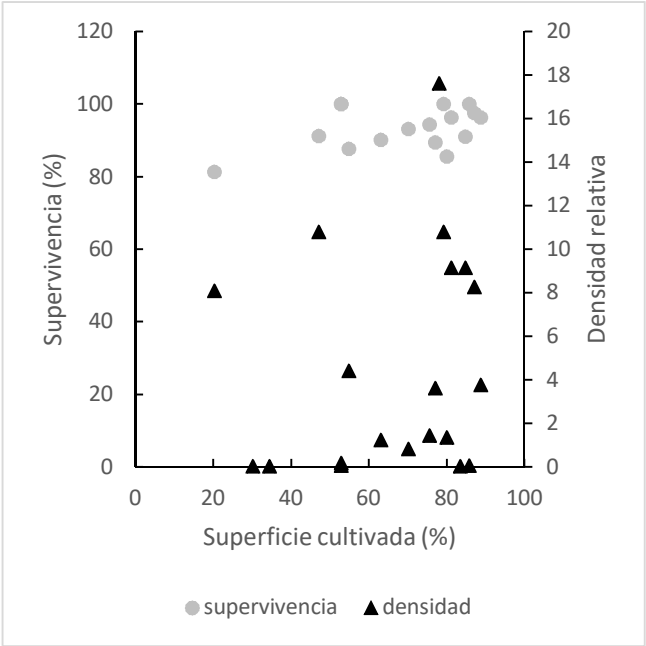
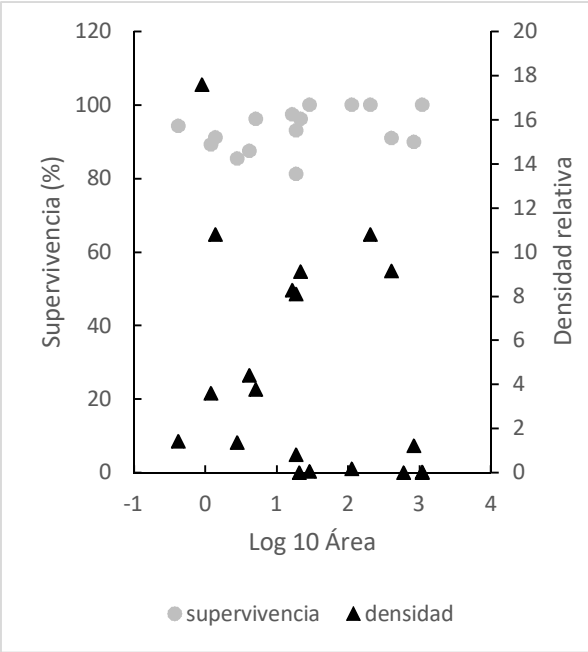
Para cada una de las 35 especies de plantas vasculares nativas consideradas en este capítulo, se construyeron dos gráficos de dispersión, en donde se muestran los porcentajes de supervivencia y densidad relativa de individuos registrados en los 20 sitios de estudio. En uno de los gráficos, el eje X muestra los fragmentos de bosque ordenados de menor a mayor tamaño (considerando el log10 del área); y en el otro gráfico, el eje X indica los fragmentos de bosque ordenados de menor a mayor según el porcentaje de superficie cultivada en su paisaje circundante. Las especies fueron ordenadas en dos grupos según su Índice de Sensibilidad al glifosato (IS). IS menor a 3 = especies sensibles, IS mayor a 3 = especies tolerantes (Tabla 5.1).

1. Especies sensibles al glifosato

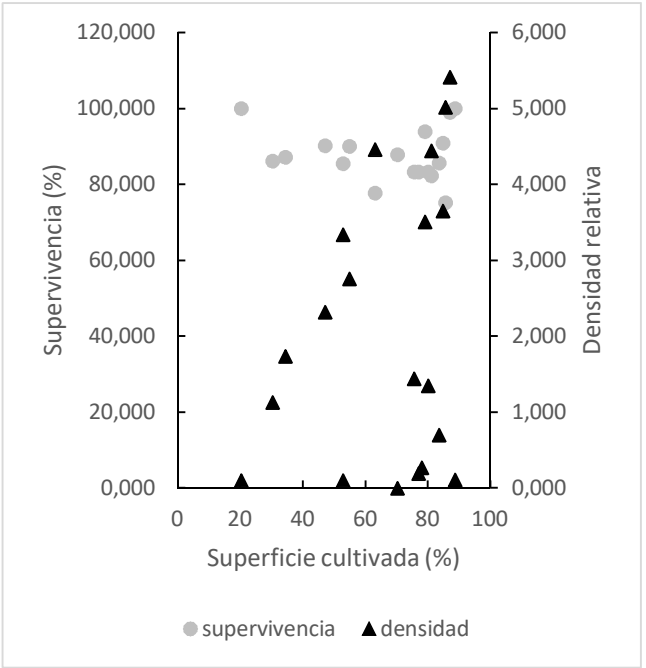
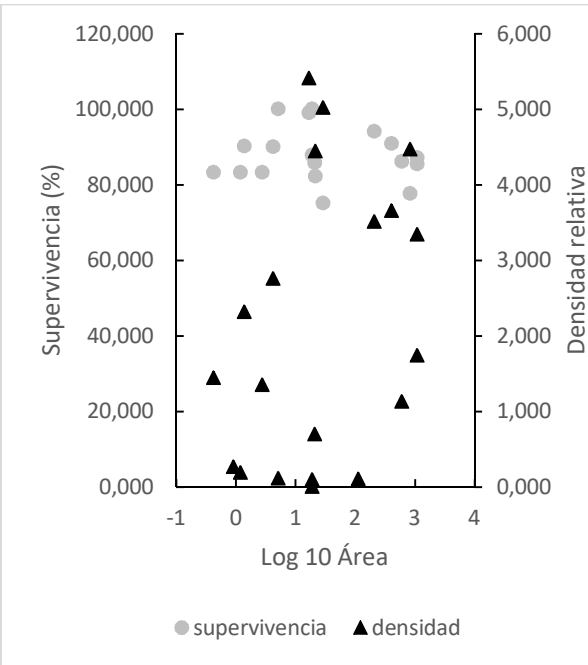
Bidens subalternans



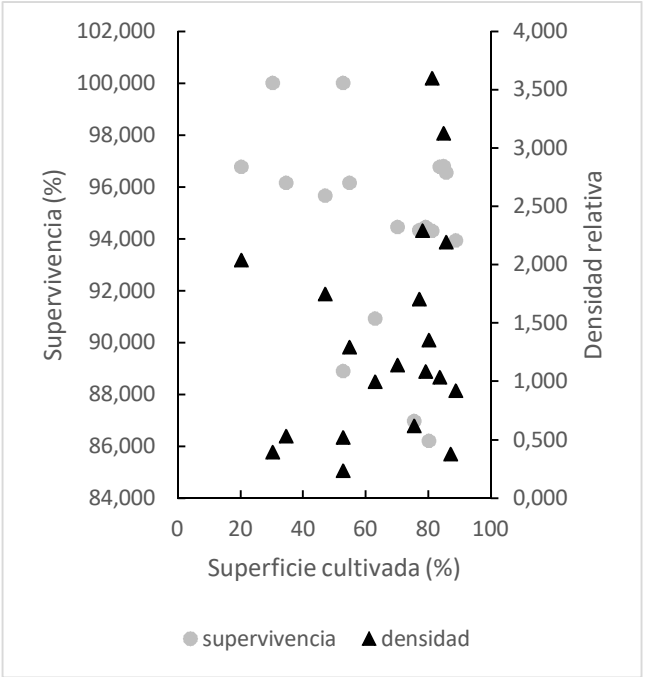
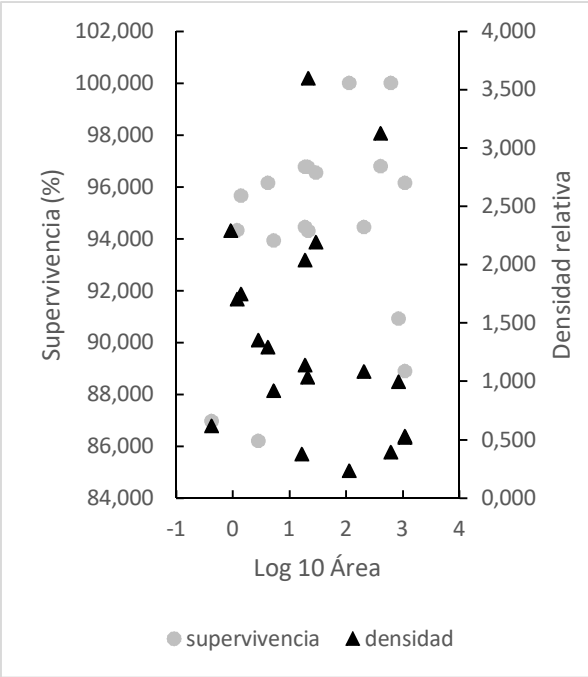
Solanum argentinum



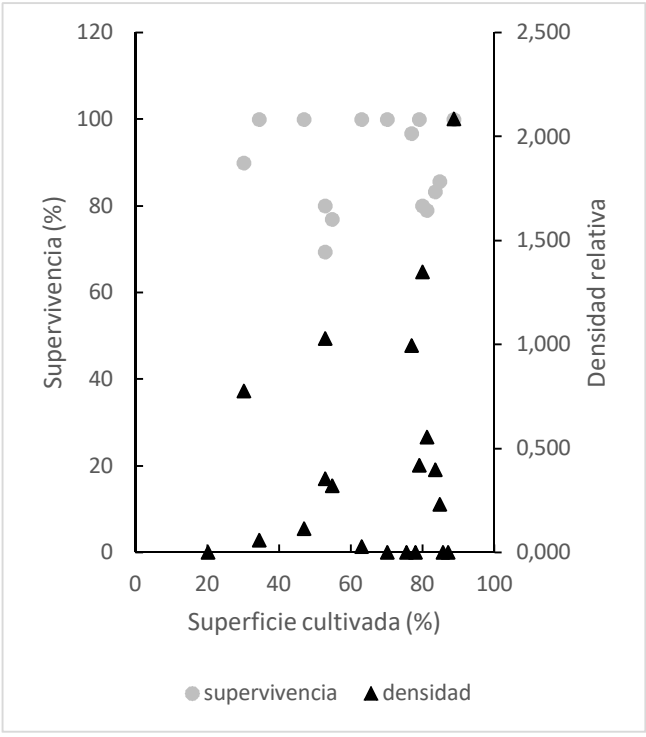
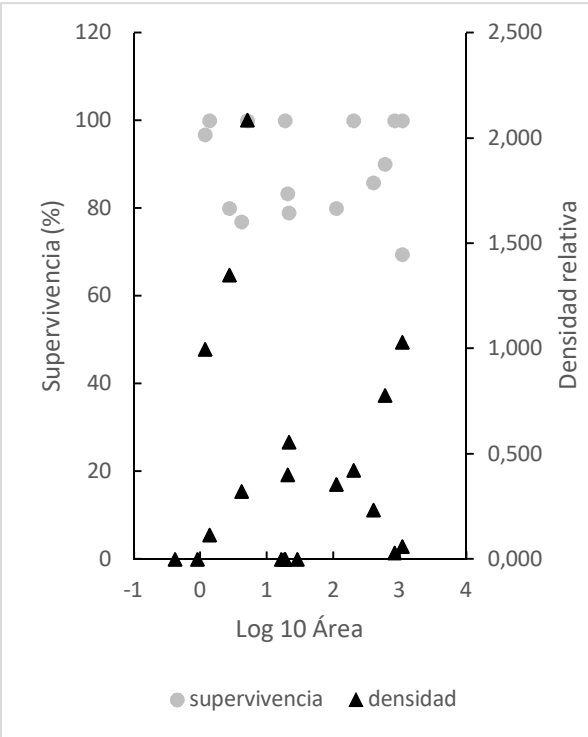
Chromolaena hookeriana



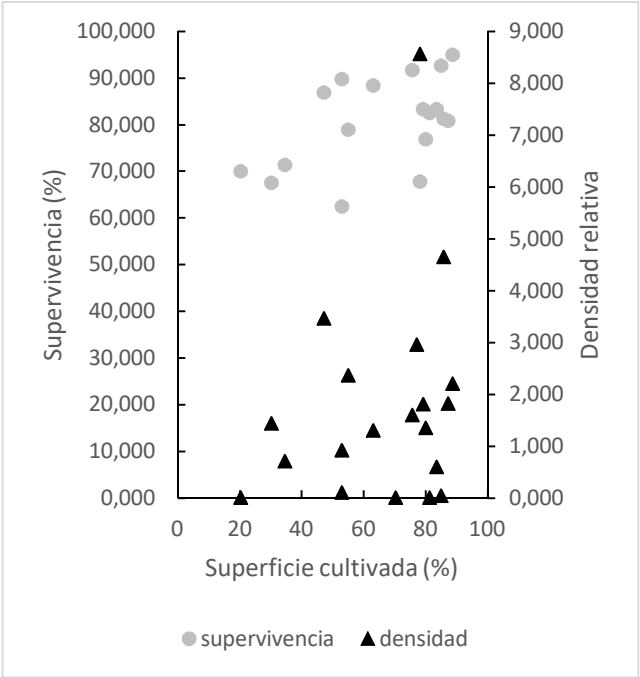
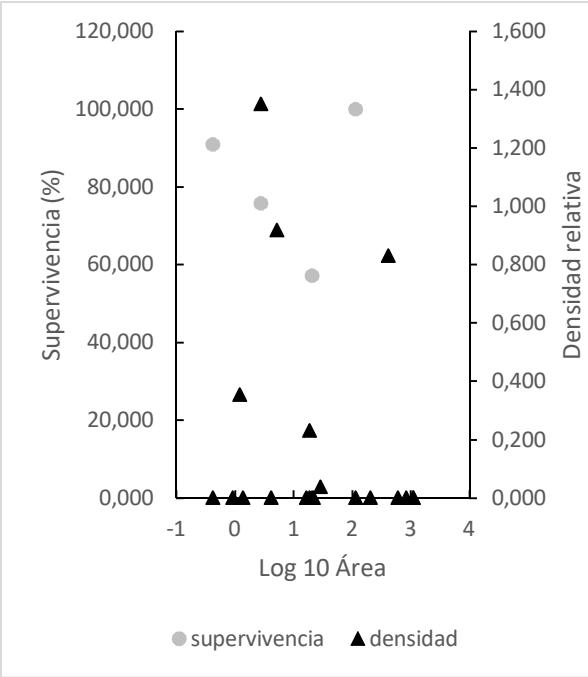
Celtis ehrenbergiana



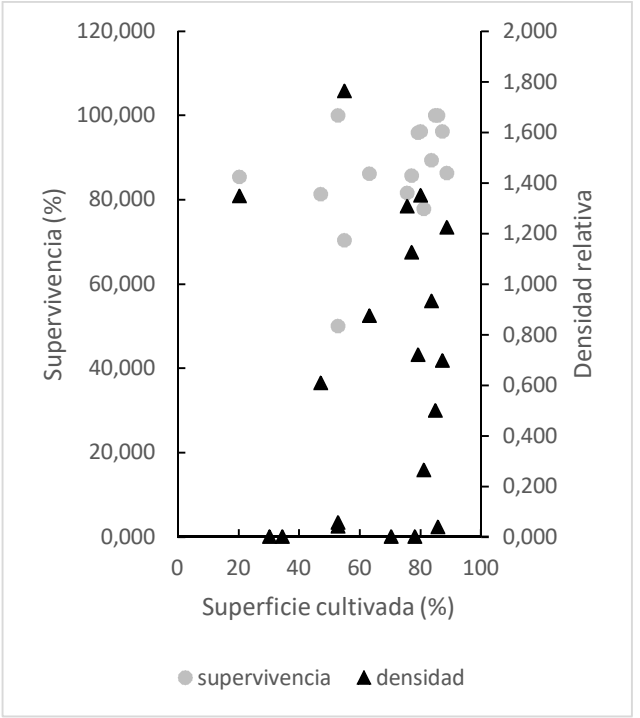
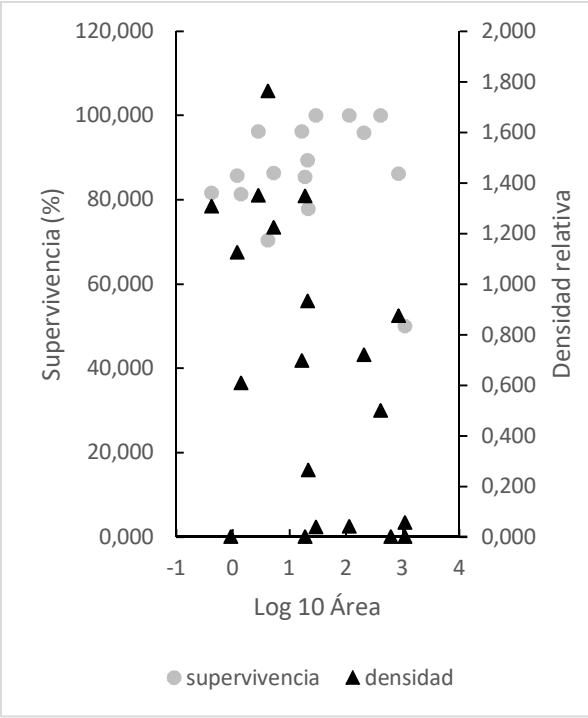
Fleishmannia prasiiflora



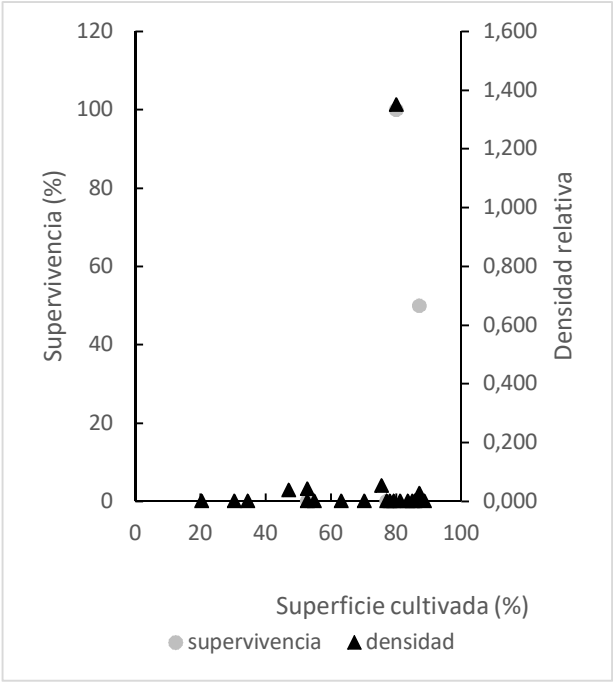
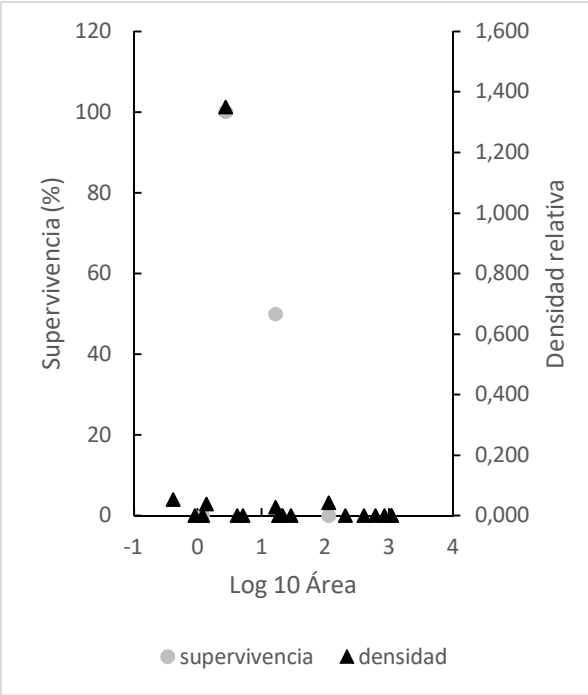
Baccharis glutinosa



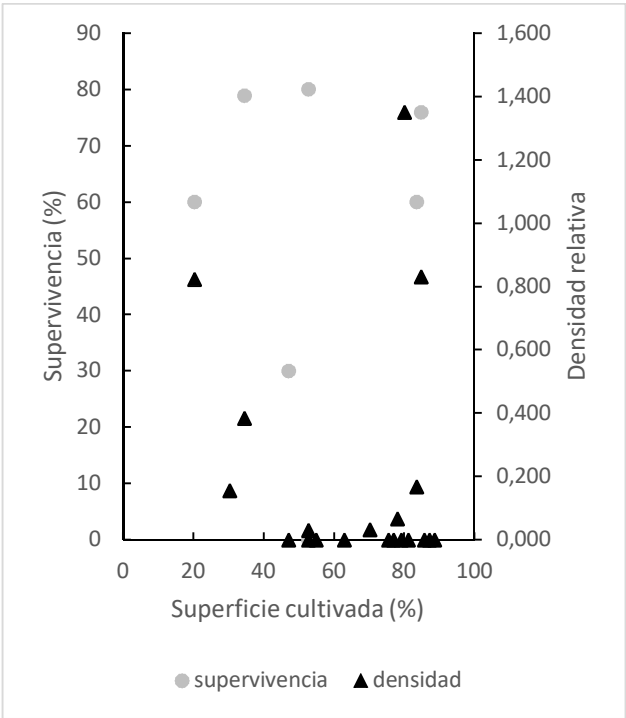
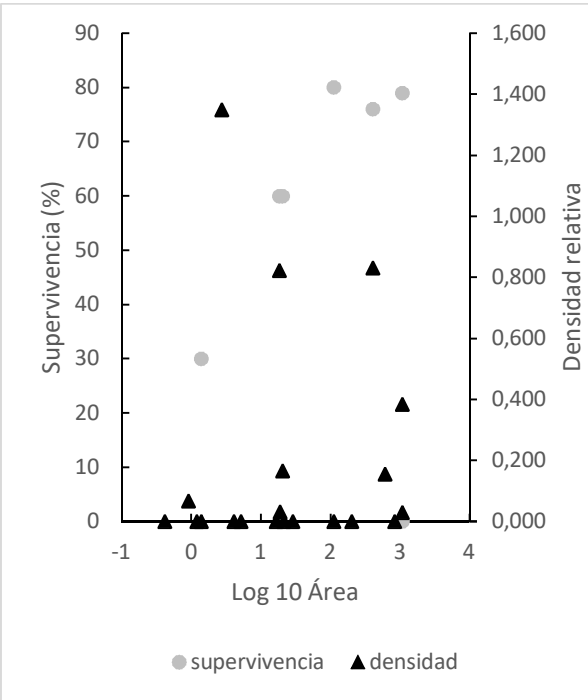
Passiflora morifolia



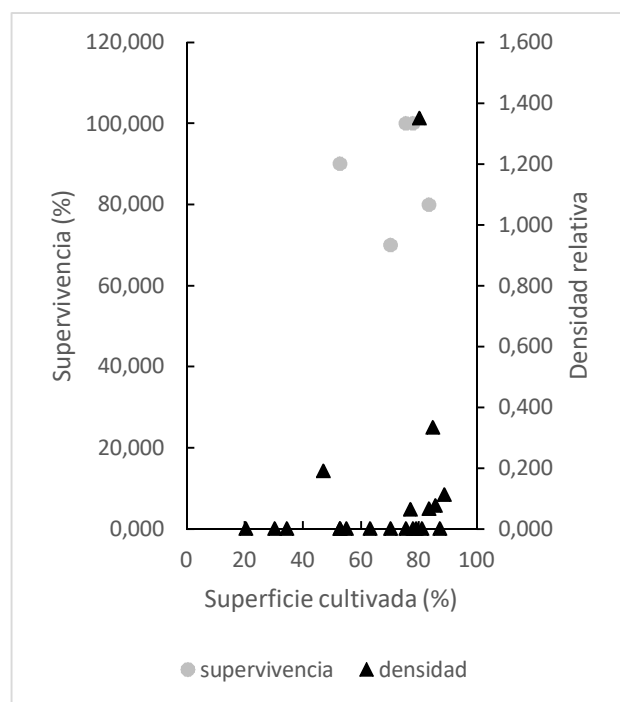
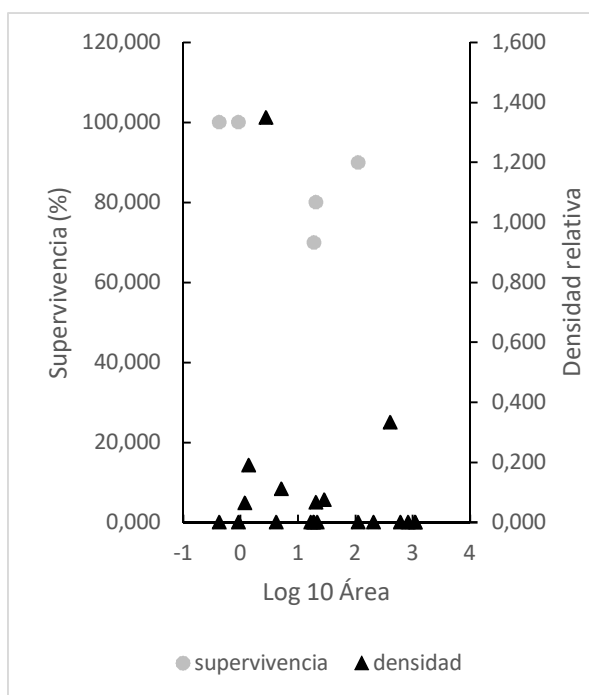
Amelichloa brachychaeta



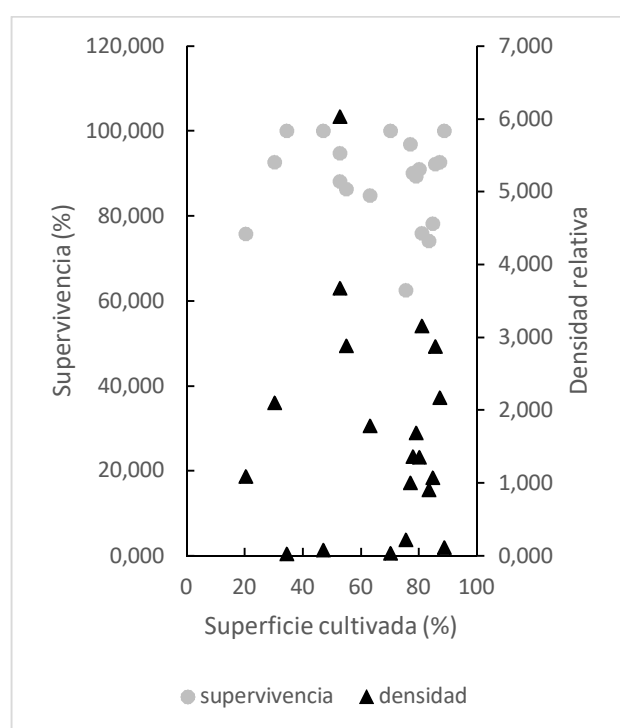
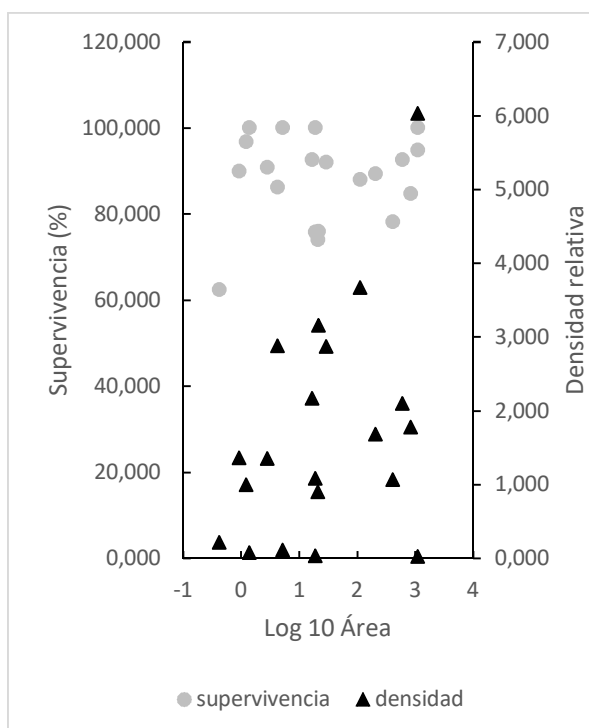
Piptochaetium sp.



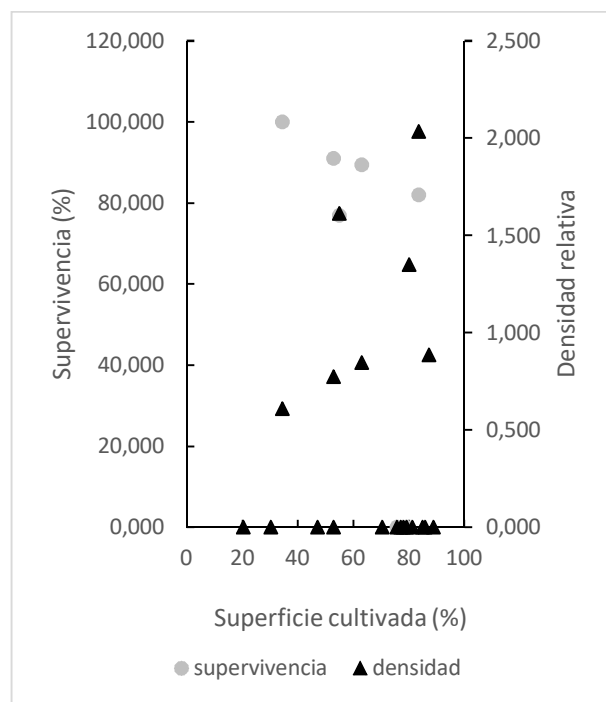
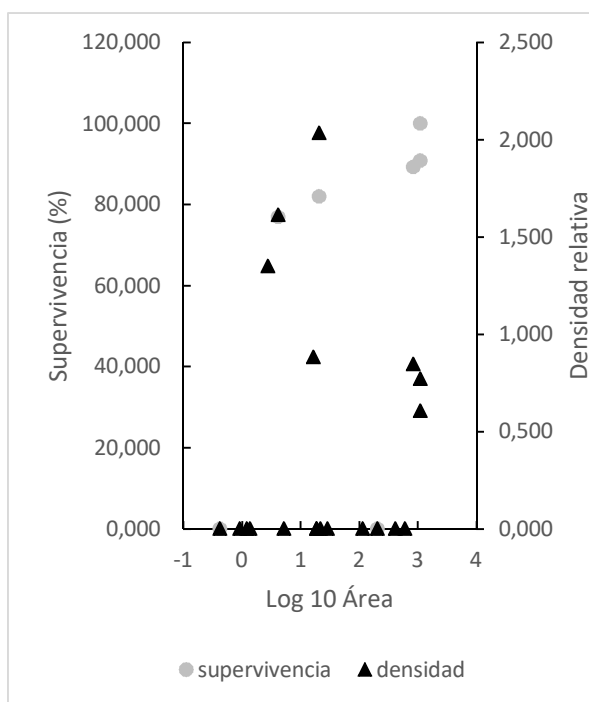
Ipomoea nil



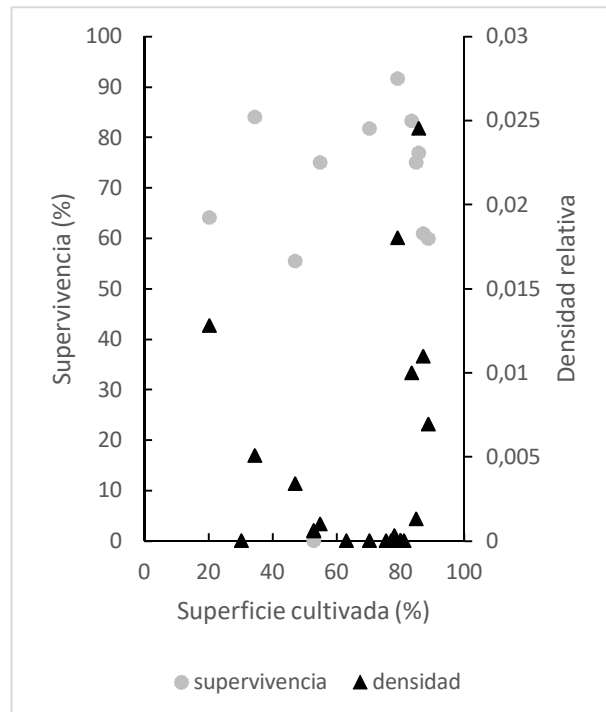
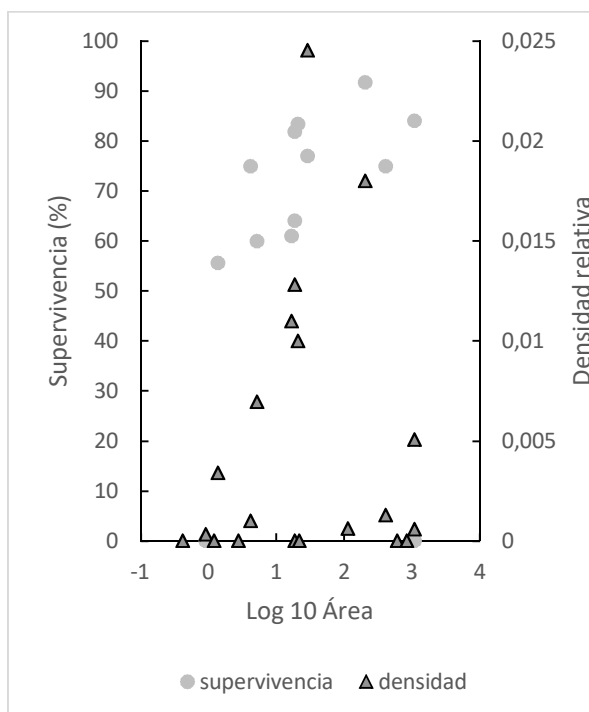
Setaria pampeana



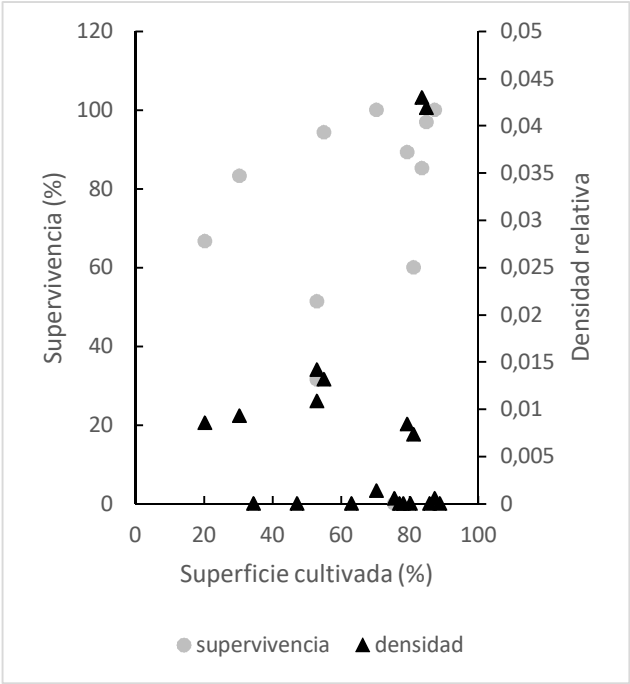
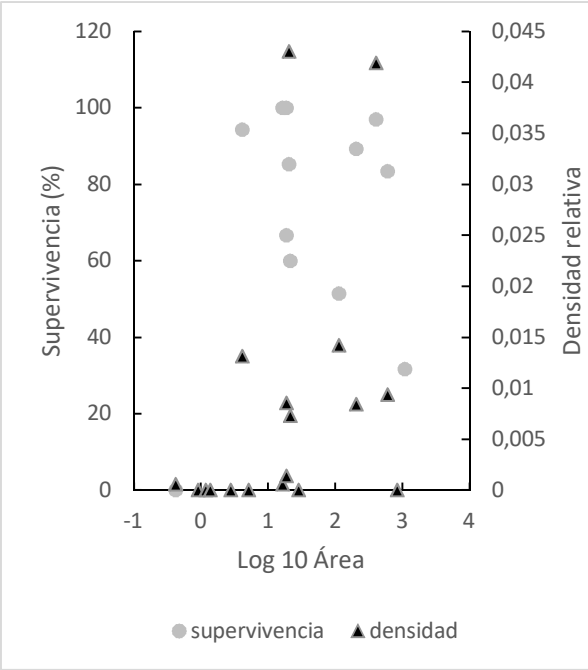
Solanum palinacanthum



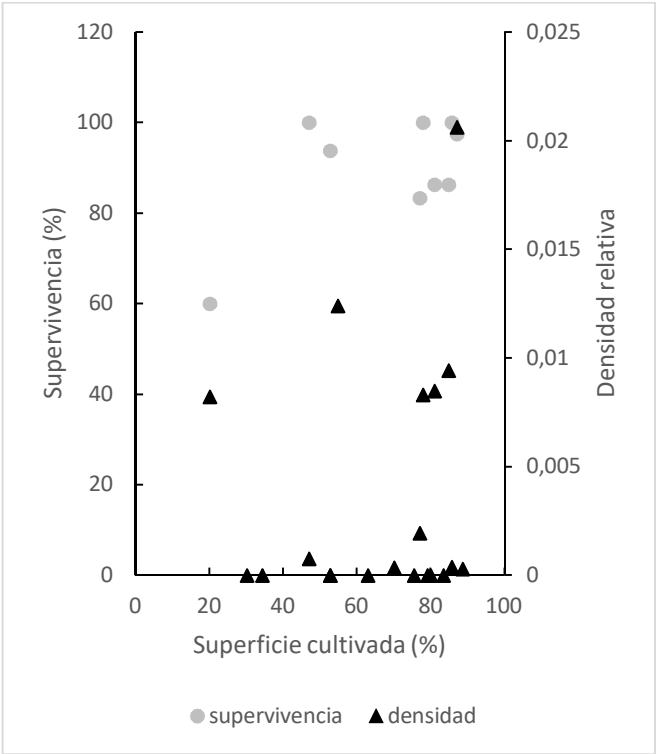
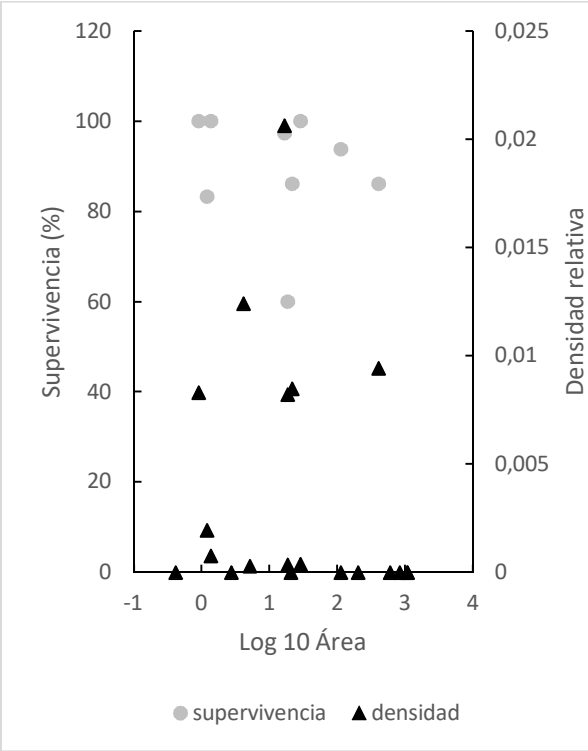
Exhalimolobos weddellii



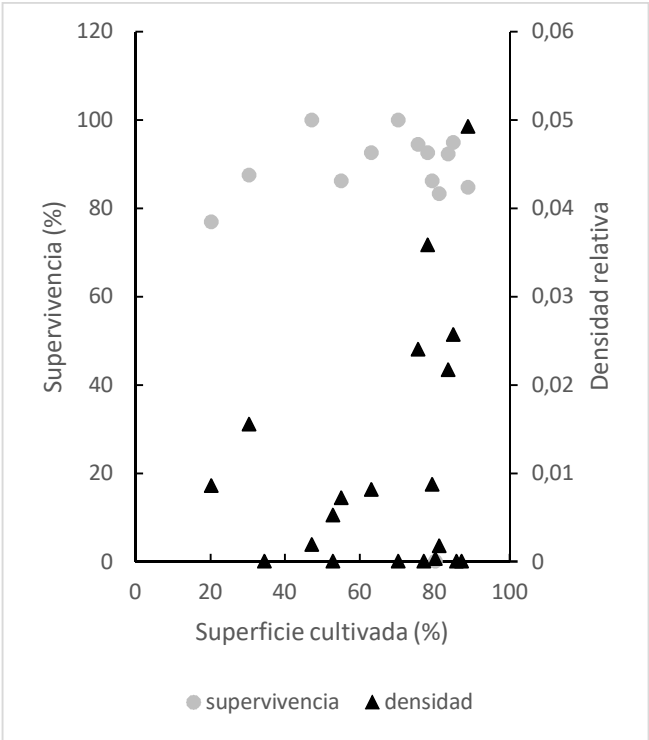
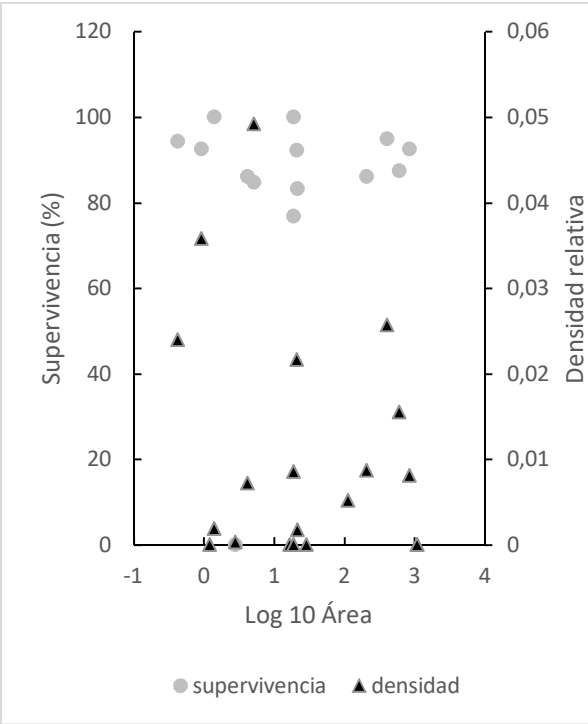
Cyperus sp.



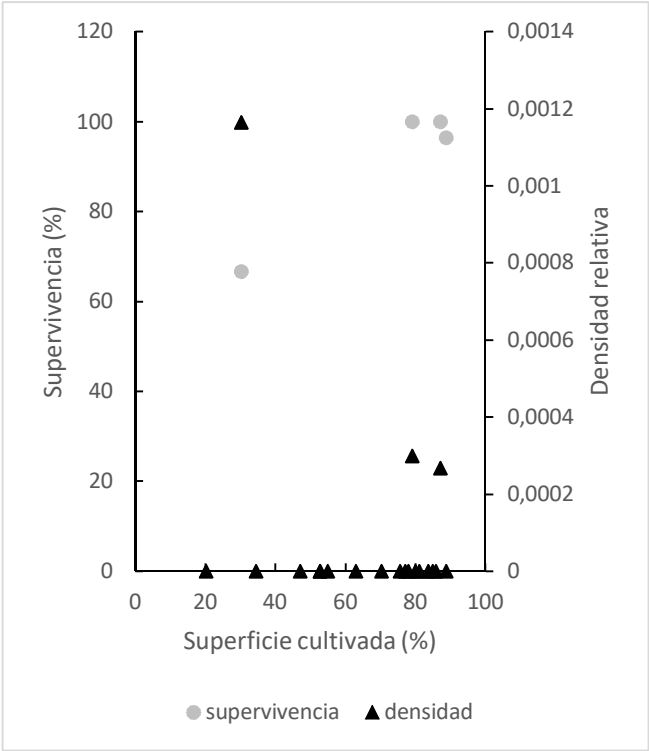
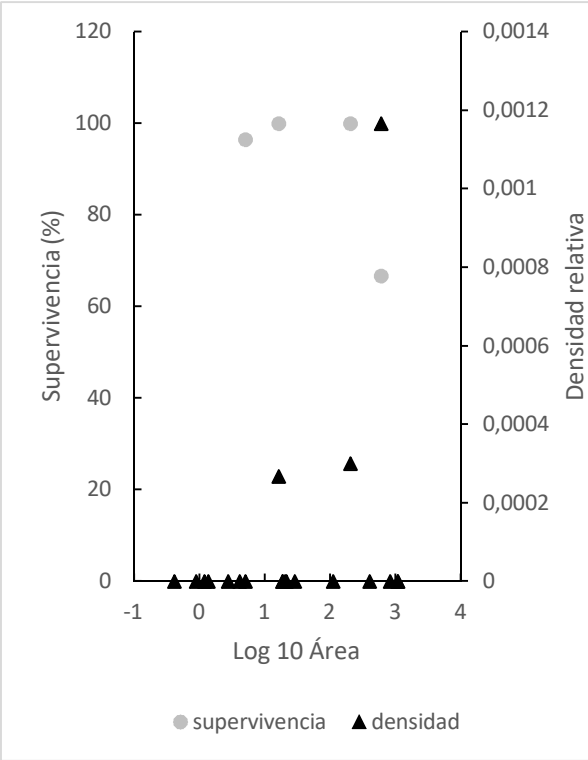
Setaria parviflora



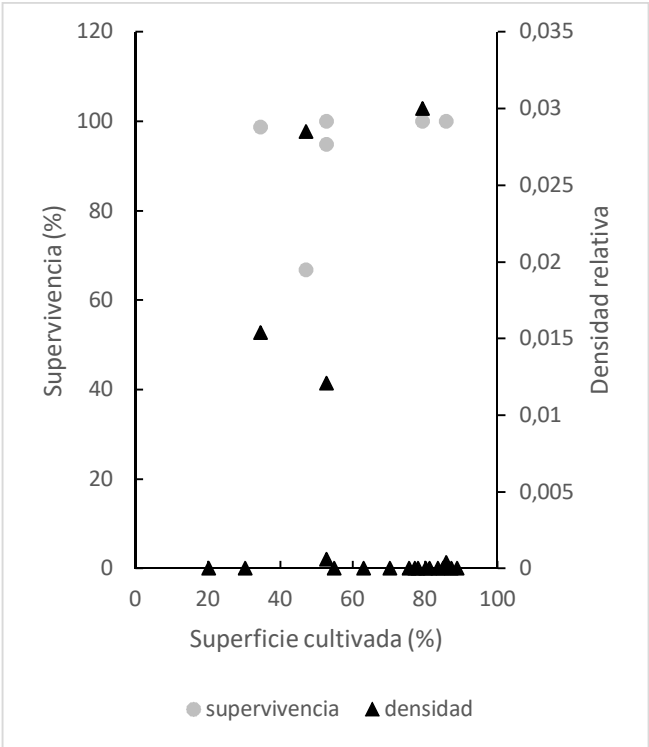
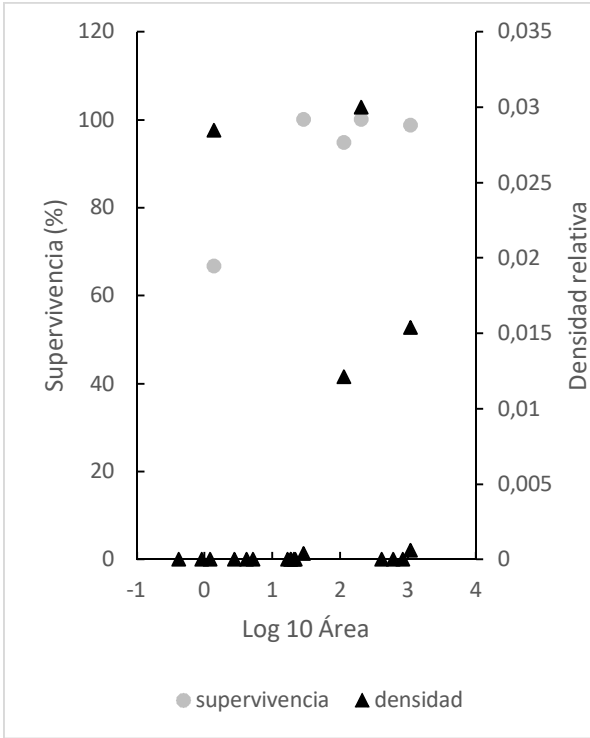
Gouinia latifolia



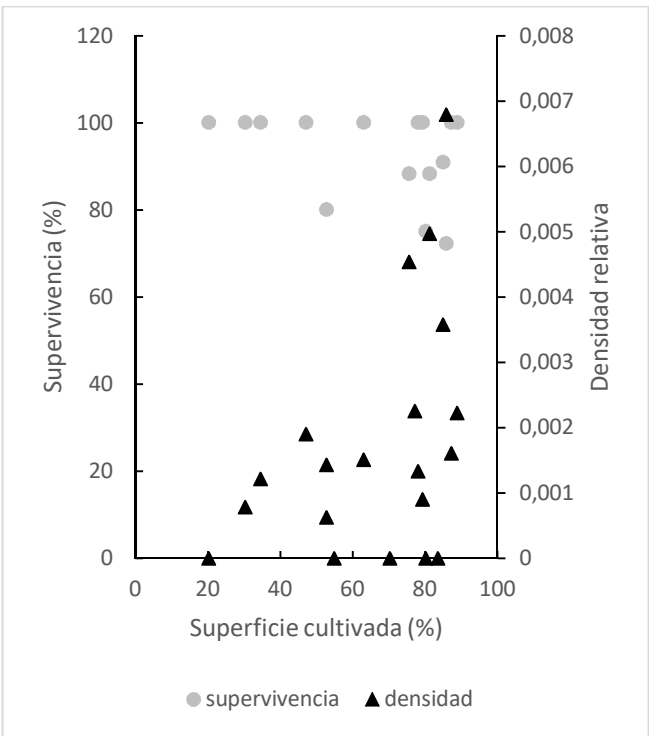
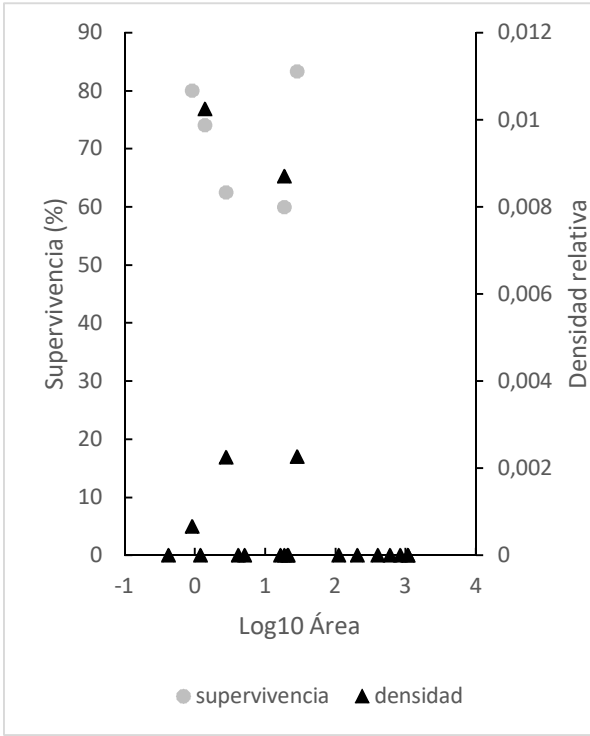
Setaria hunzikeri



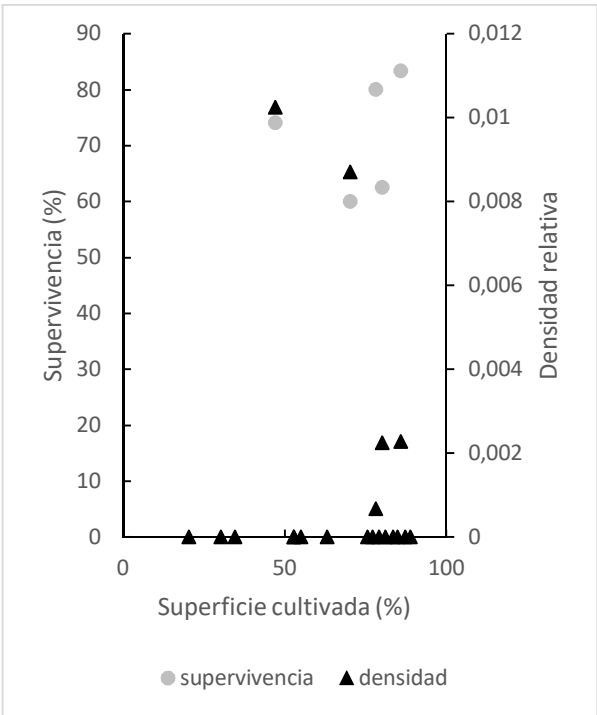
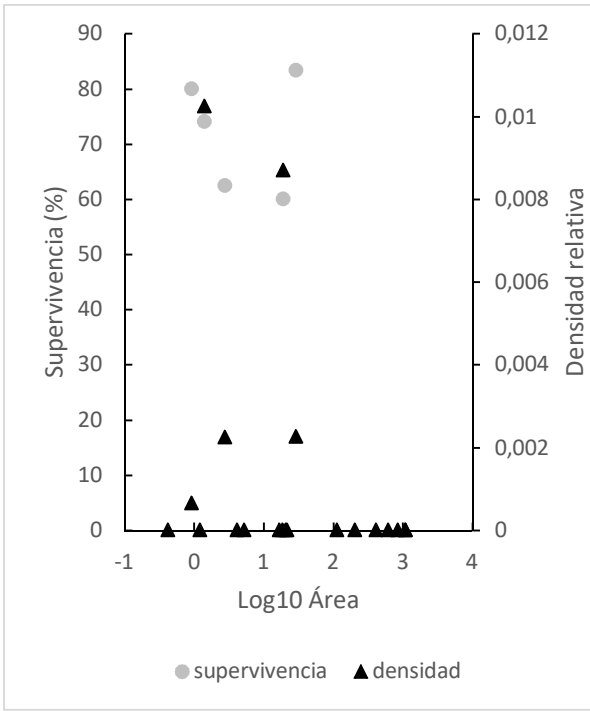
Paspalum mallacophyllum



Schinus fasciculatus

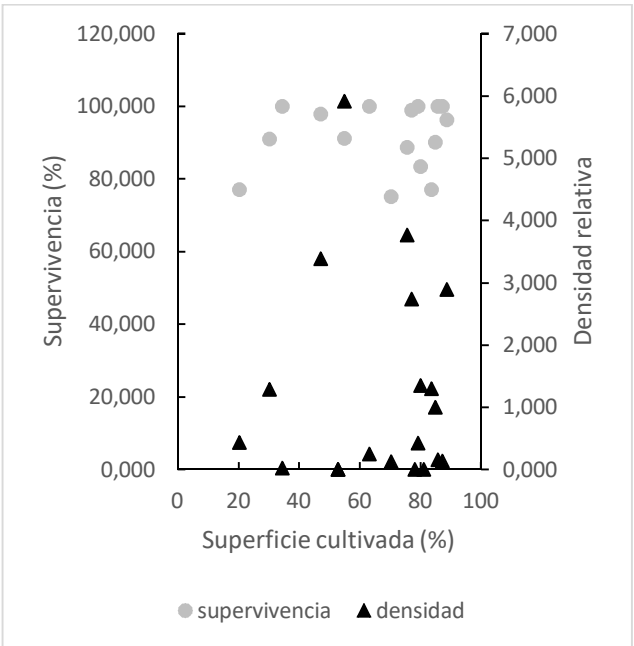
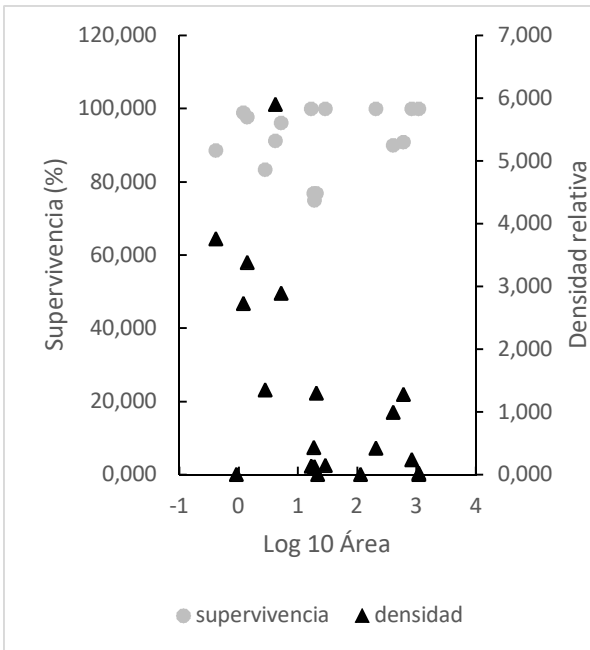


Dysphania ambrosioides

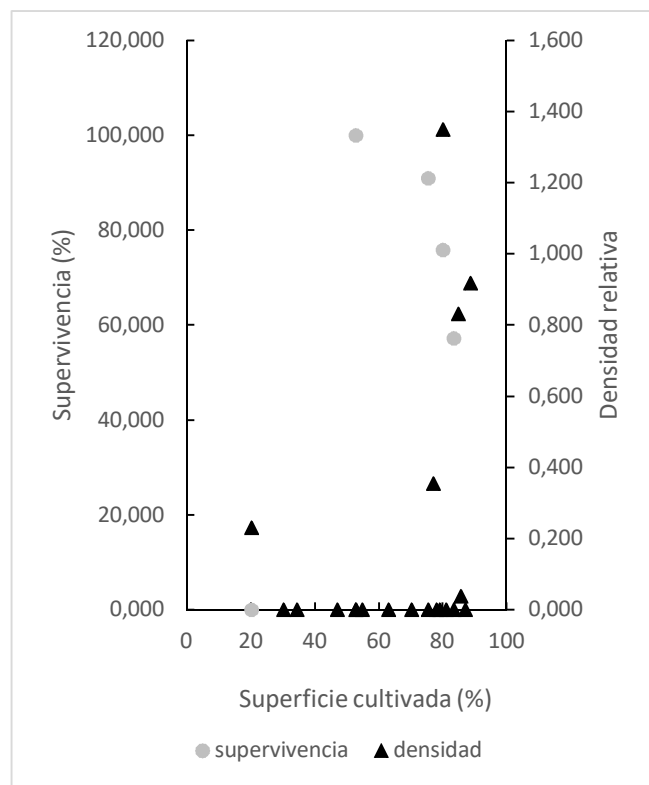
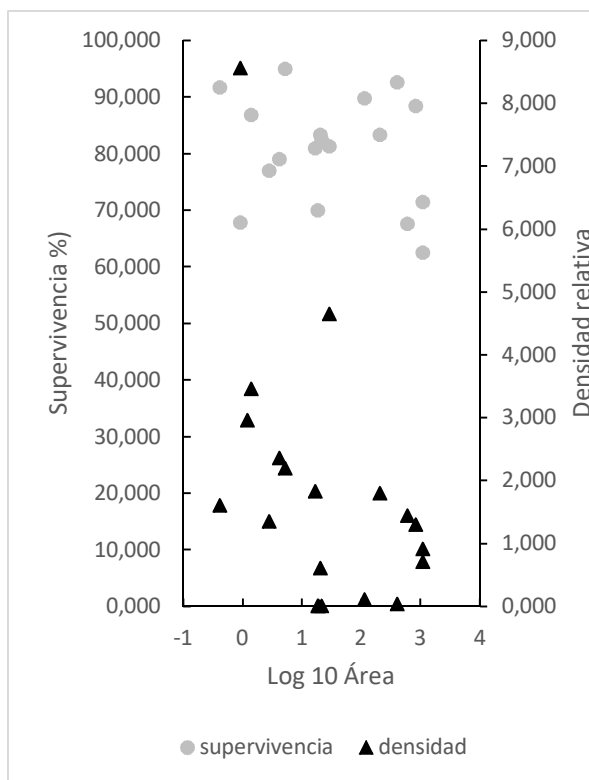


2. Especies tolerantes al glifosato

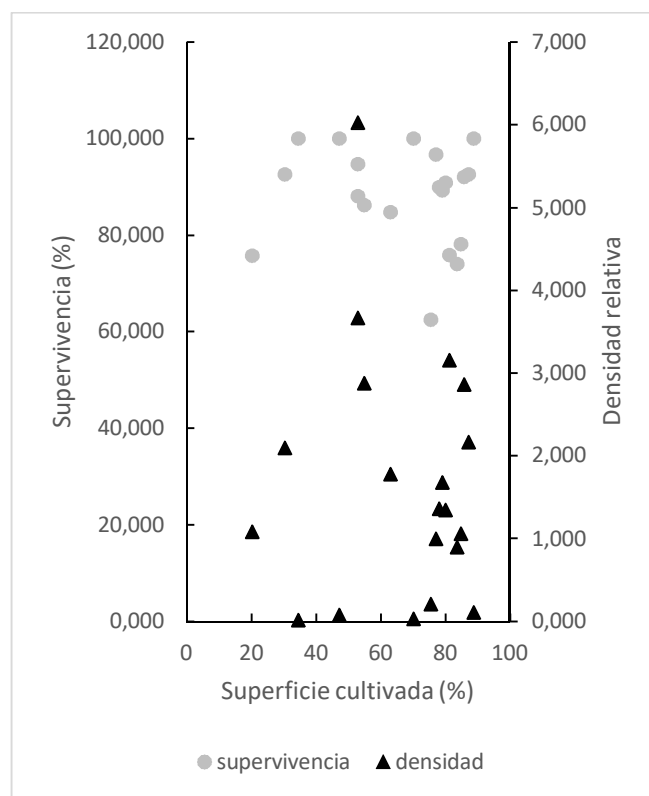
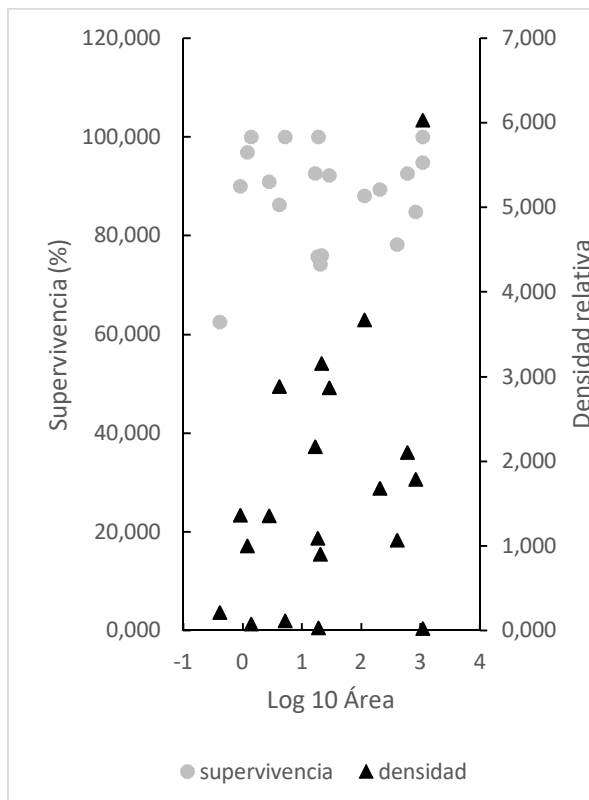
Ipomoea purpurea



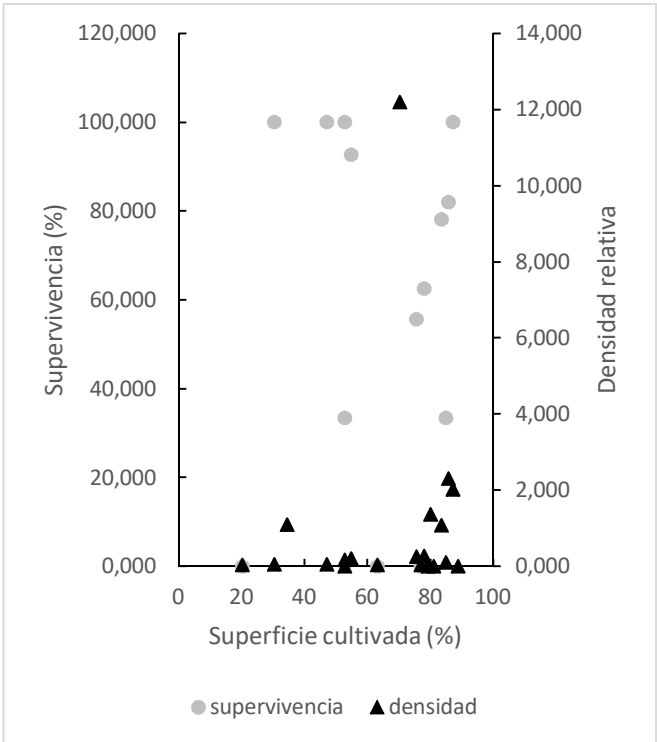
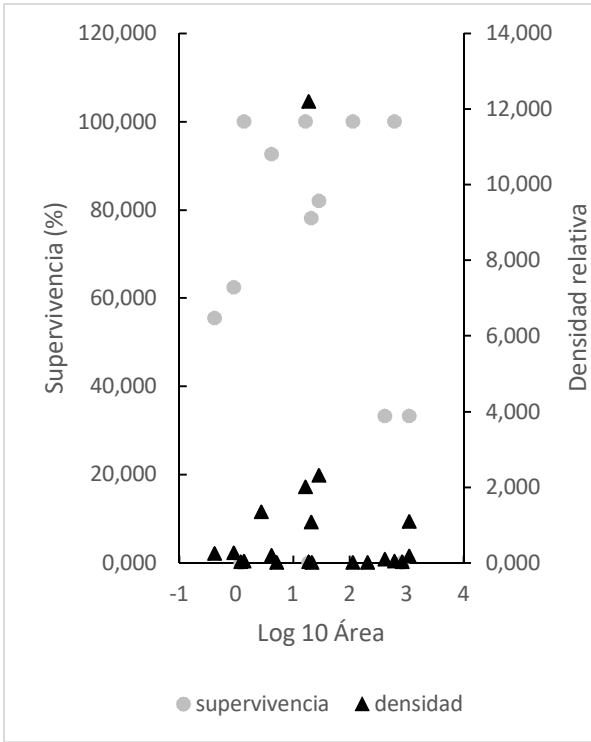
Rivina humilis



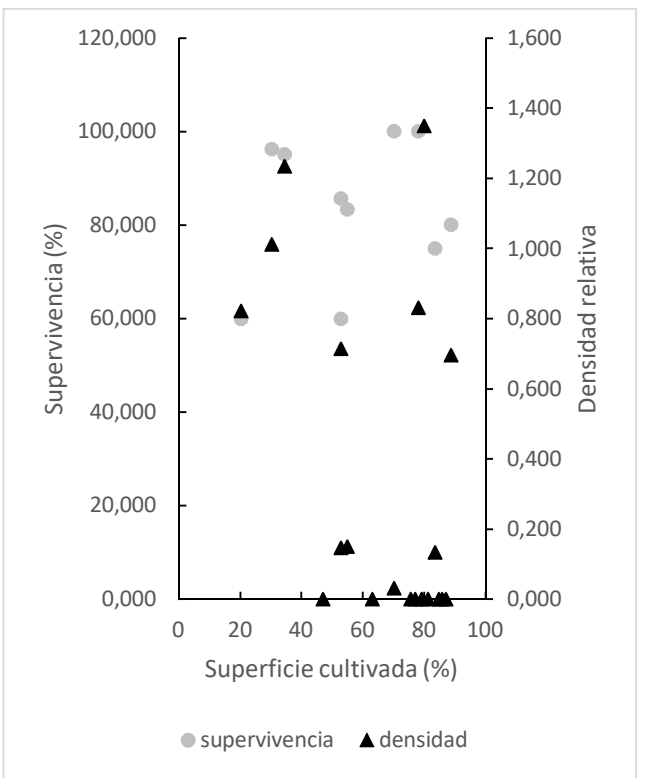
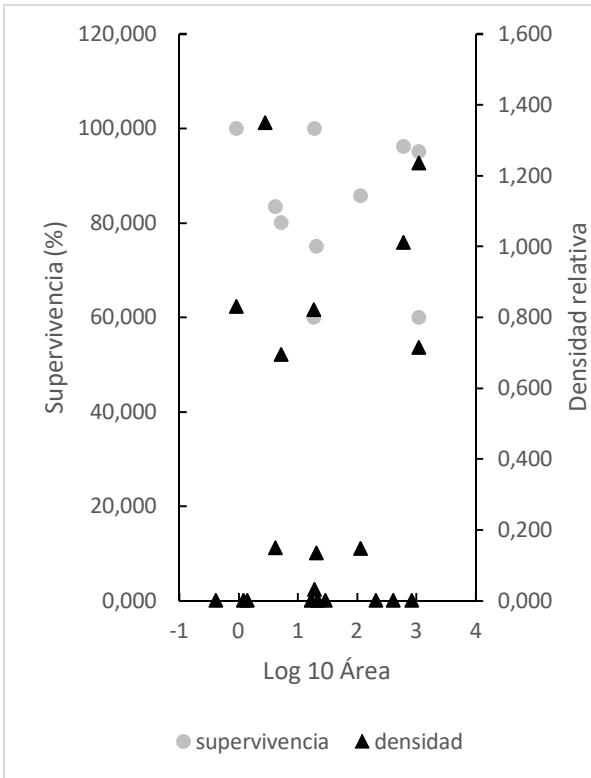
Iresine diffusa



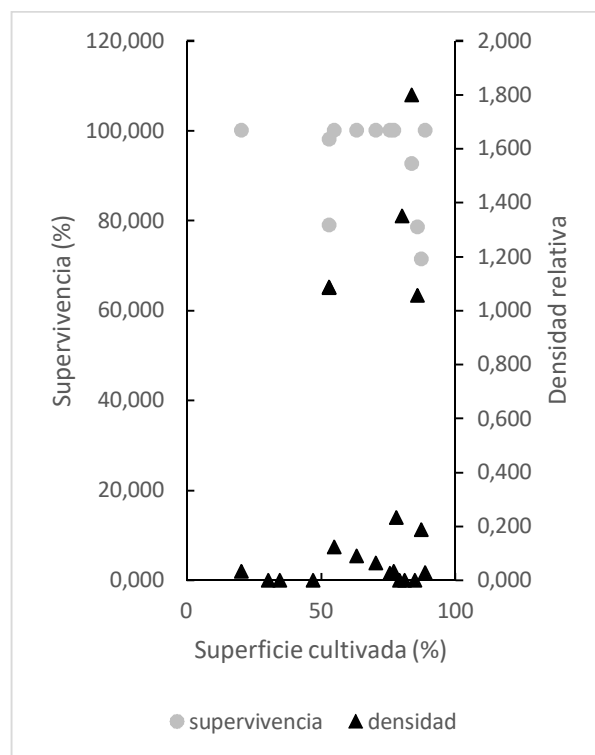
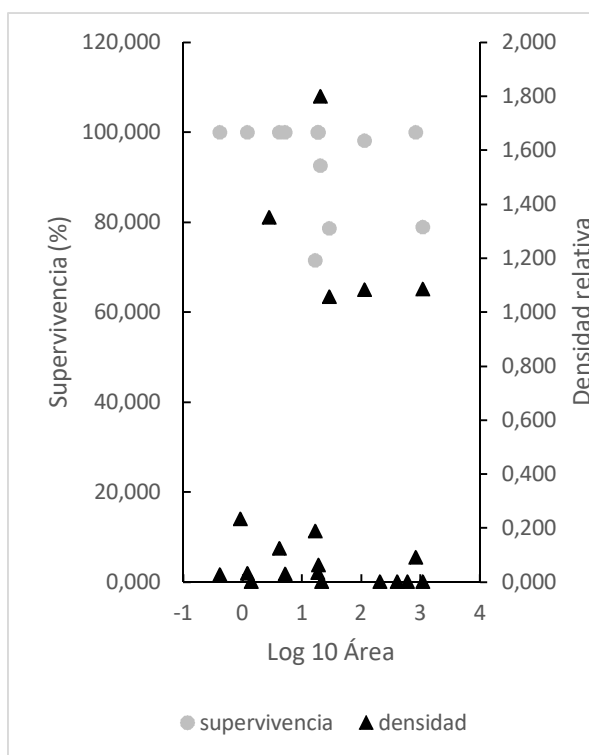
Sida spinosa



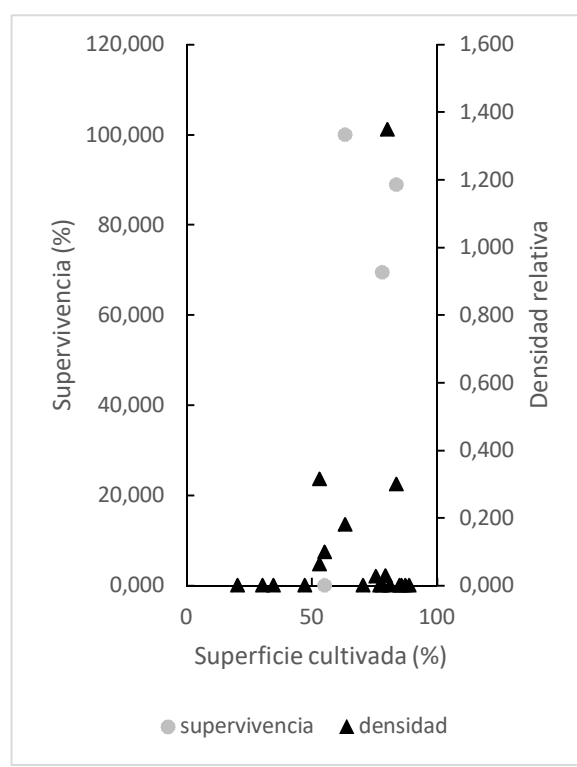
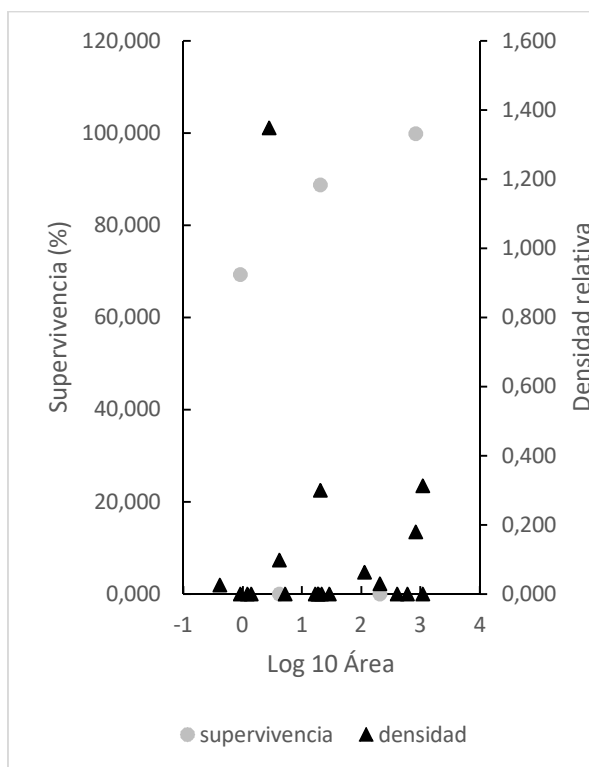
Bouteloua curtipendula



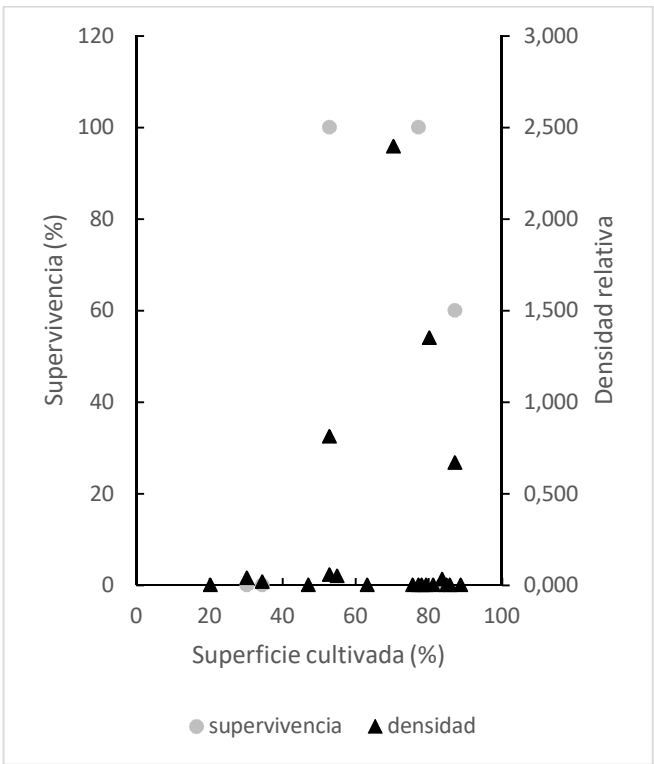
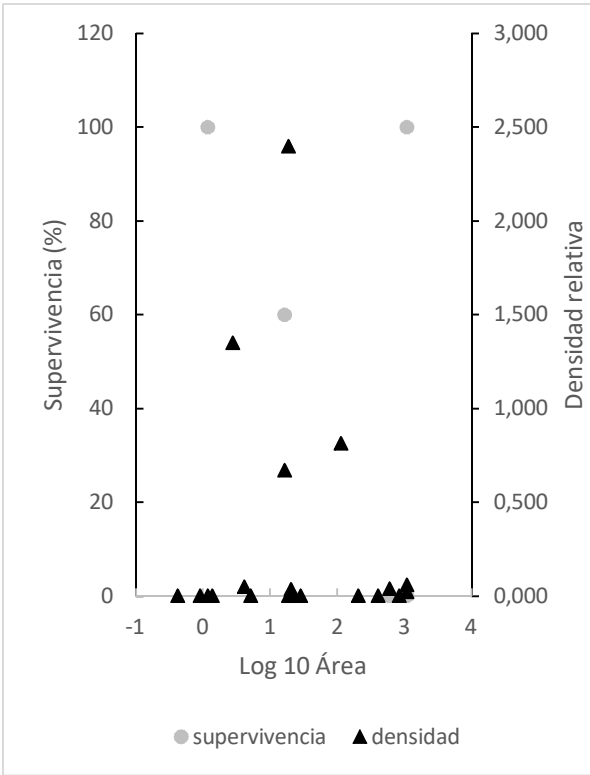
Jarava ichu



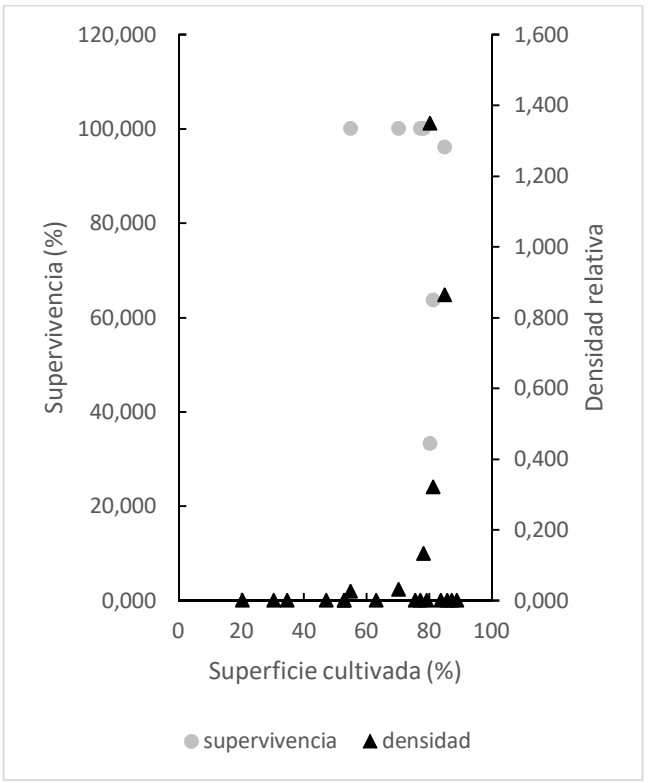
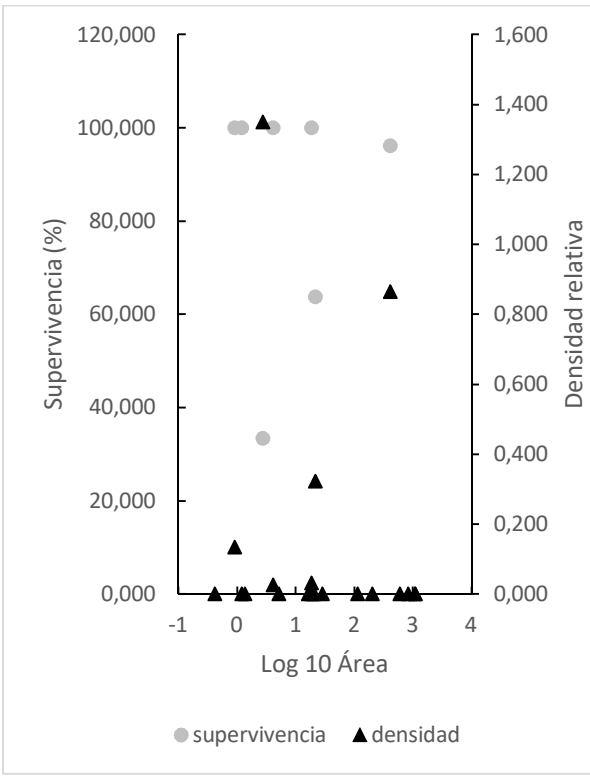
Solanum pseudocapsicum



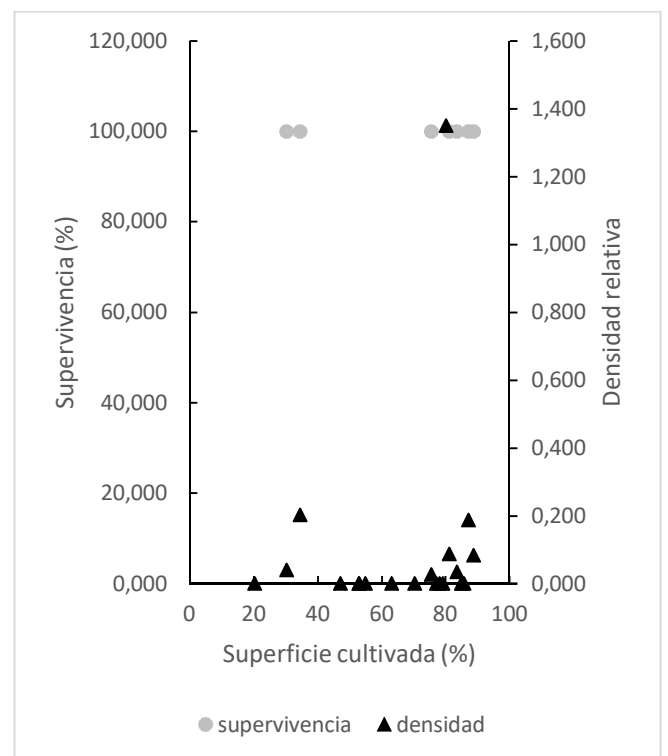
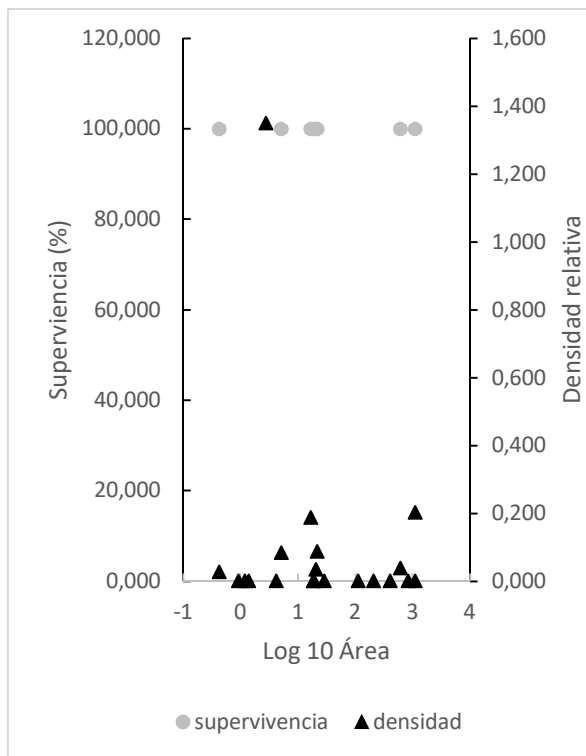
hynchosia edulis



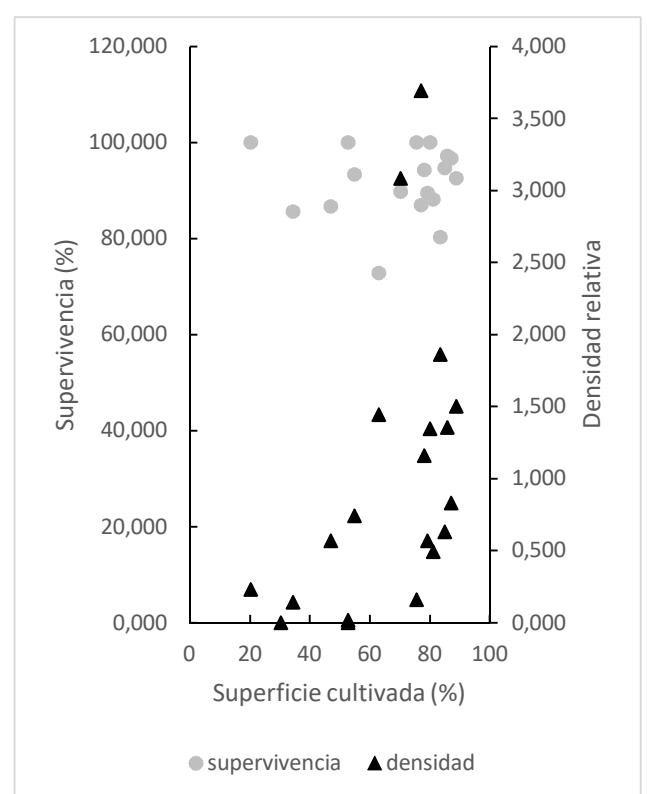
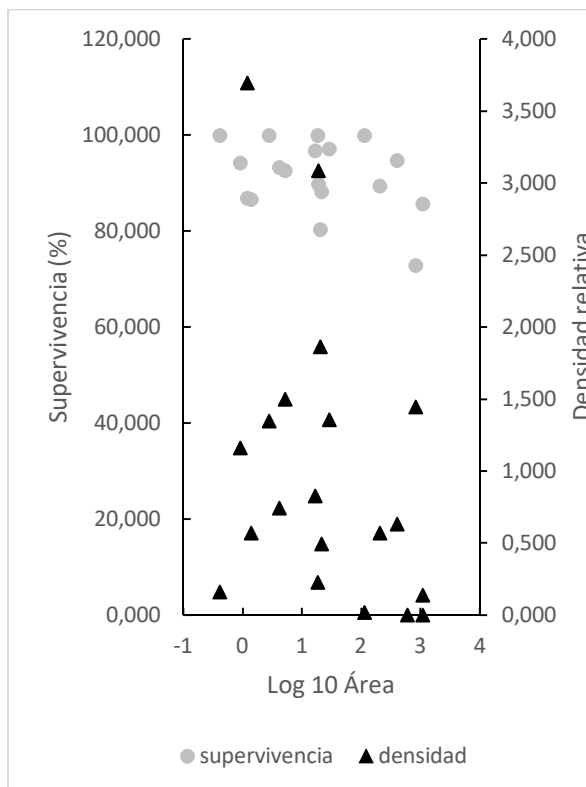
Cardiospermum halicacabum



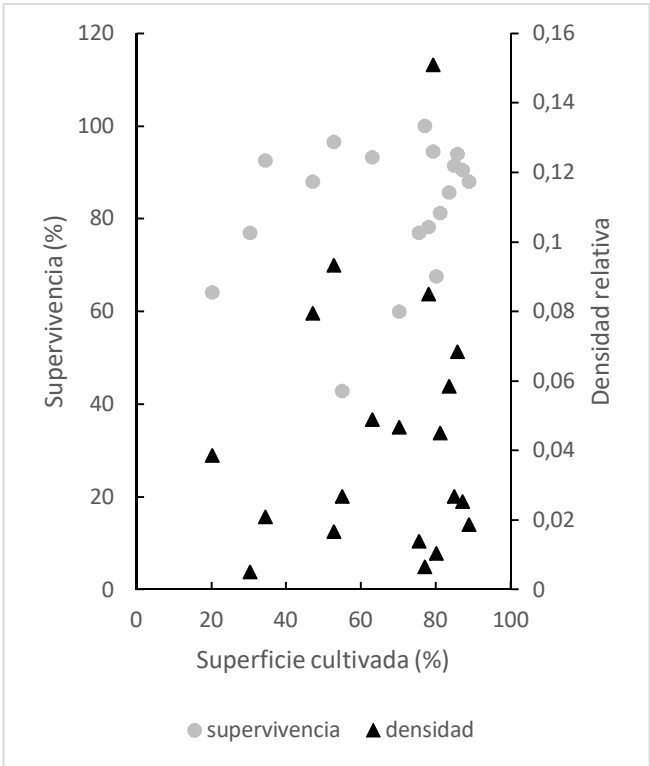
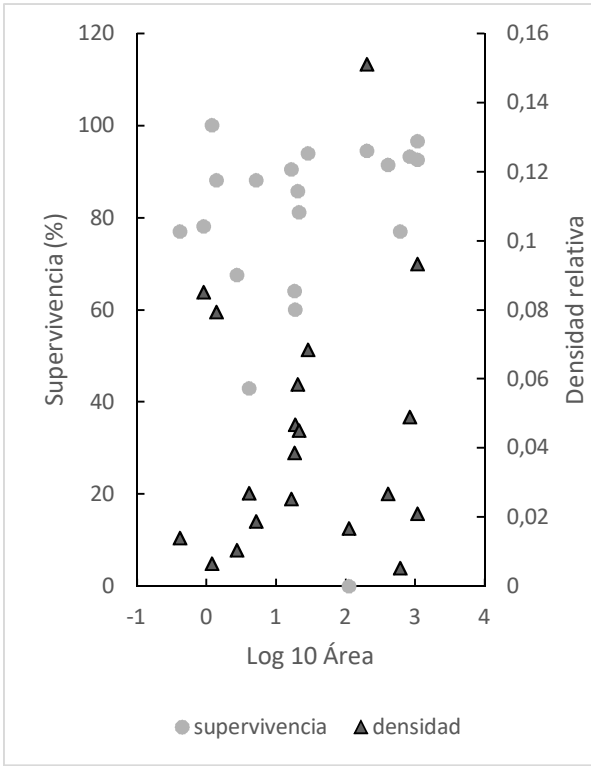
Acacia aroma



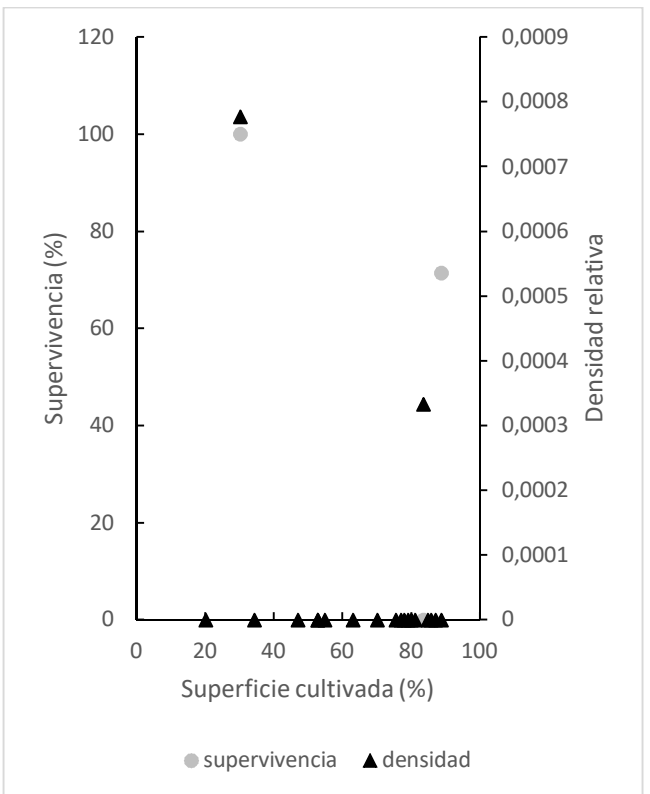
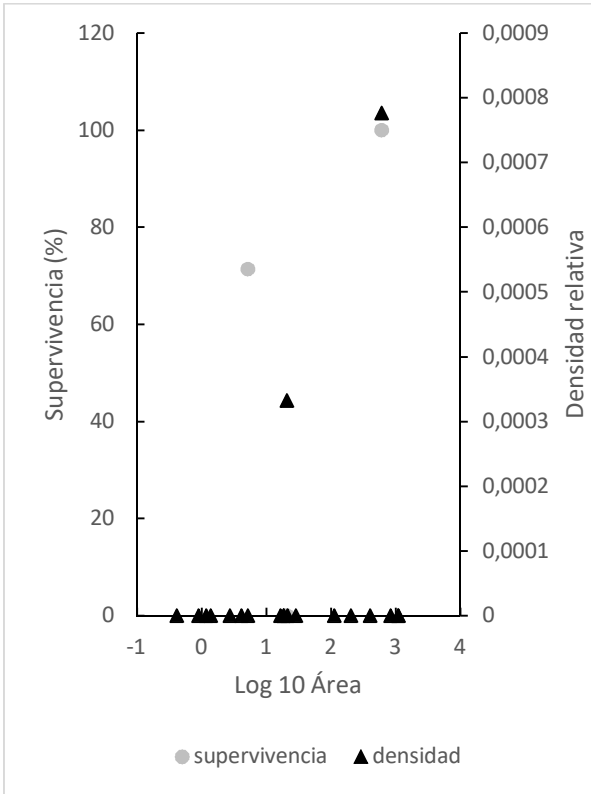
Amphilophium carolinae



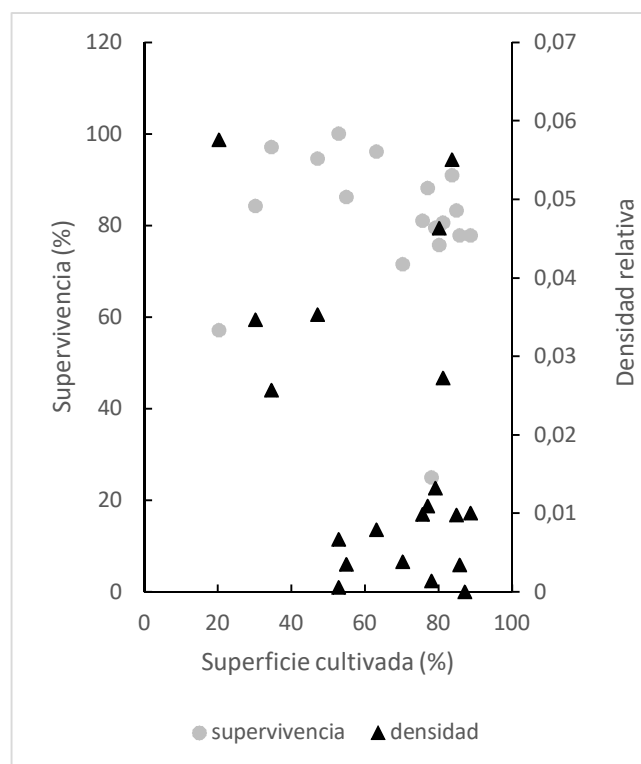
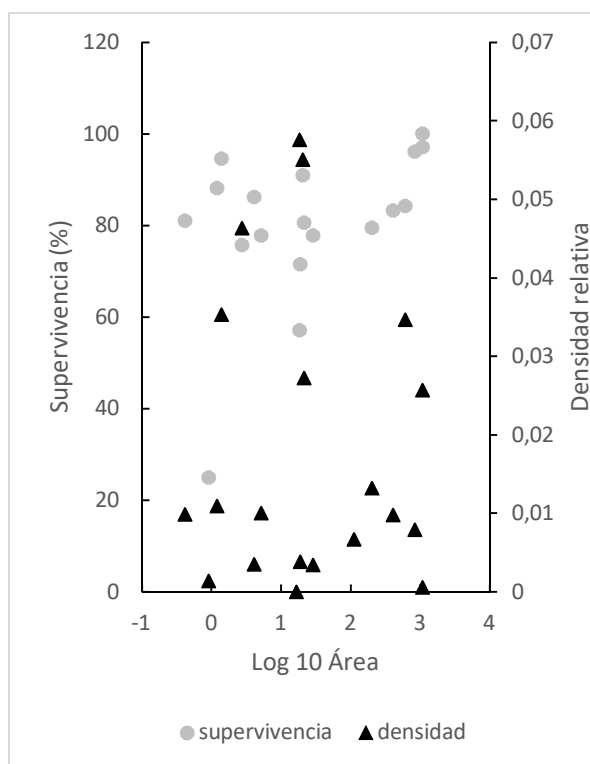
Sida rhombifolia



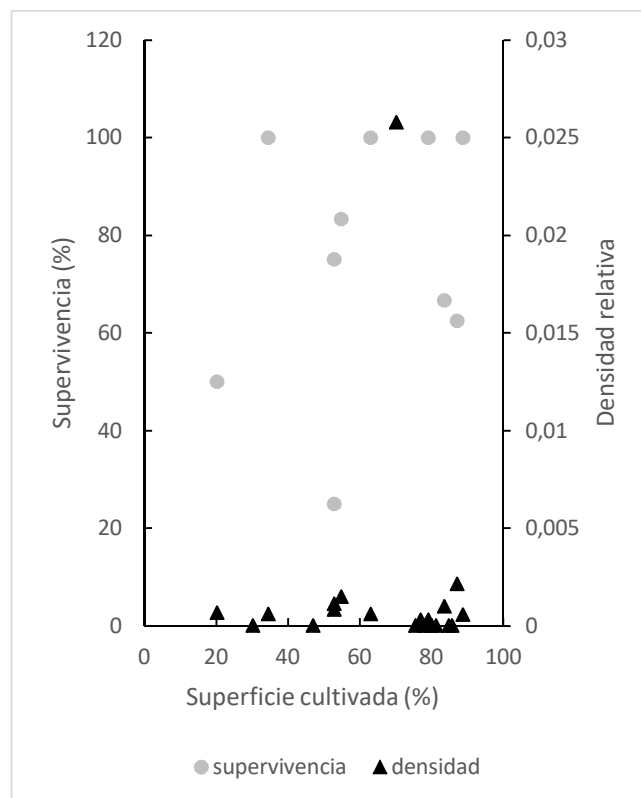
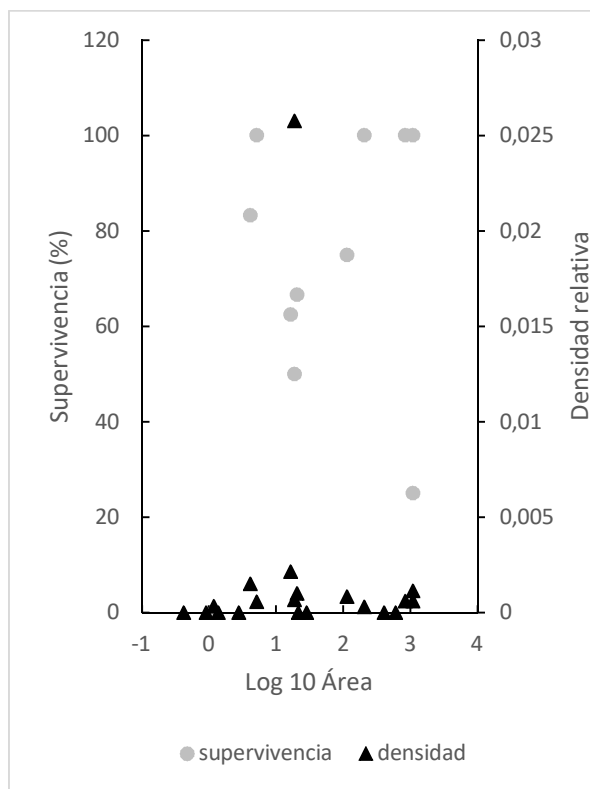
Abutilon pauciflorum



Sida dyctiocarpa



Malvastrum interruptum



DISCUSIÓN GENERAL

Al analizar, el grado de sensibilidad de las plantas nativas al glifosato (Capítulo I y III), se observaron efectos letales o subletales (fitotoxicidad y reducción del crecimiento) en todas las especies nativas estudiadas, aun cuando se aplicaron dosis muy bajas de glifosato, equivalentes a dosis de deriva. Los resultados obtenidos siguen la misma tendencia observada en trabajos previos realizados en otras regiones biogeográficas, en los cuales se describen efectos letales y subletales inmediatos de los agroquímicos en plantas no-blanco. Por ejemplo, reducción de la biomasa (Gove et al., 2007), supresión de la floración (Martin, 2011), reducción en la producción de semillas (Boutin et al., 2000; Fletcher et al., 1996; Kjaer et al., 2006; Schmitz et al., 2013;) o fitotoxicidad (Schmitz et al., 2014). Sobre la base de estos antecedentes, es razonable pensar que este grupo de especies de las comunidades del Chaco estaría siendo fuertemente afectado por la aplicación de glifosato en las tierras agrícolas adyacentes, y los efectos podrían incrementarse con el tiempo, dando lugar, por ejemplo, a cambios en la diversidad de las comunidades naturales.

Es importante destacar que entre las especies estudiadas se observó un gradiente de sensibilidad al glifosato; en el cual algunas especies mueren con dosis muy bajas, pero otras sobreviven con efectos moderados o son tolerantes al herbicida. Este gradiente de sensibilidad fue corroborado con las dos metodologías diferentes aplicadas en este trabajo (reducción del crecimiento y síntomas de fitotoxicidad). De esta manera, la supervivencia de las especies menos sensibles, podría dar lugar a la evolución de biotipos tolerantes o resistentes al glifosato, lo cual se está convirtiendo en un problema grave en agroecosistemas de todo el mundo en donde se utiliza glifosato como único herbicida (Duke y Powles, 2008; Vila-Aiub et al., 2008).

En la presente Tesis Doctoral se evaluaron, además, las diferencias de susceptibilidad de las plantas nativas no-blanco al glifosato, según el estadio de crecimiento de las mismas y el fragmento de bosque de origen de las semillas, considerando el grado de exposición al herbicida según el área de los fragmentos (Capítulo III). A partir de los resultados obtenidos, fue posible apoyar la hipótesis planteada en este Capítulo, en la cual se proponía encontrar relaciones positivas entre la susceptibilidad de las plantas nativas al glifosato y el origen de las semillas. Es decir, se esperaban mayores efectos del glifosato en plántulas cuyas semillas

de origen provinieran de fragmentos de bosque con menor grado de exposición a este herbicida (i.e., menor presión de selección de biotipos tolerantes); en comparación con aquellas poblaciones que han estado más expuestas. En particular, vale destacar las diferencias en las tendencias encontradas cuando se separan las plantas de acuerdo al nivel histórico de exposición al glifosato (i.e., origen de las semillas de las especies, según categorías de tamaño de los fragmentos). Se observó que, si bien el mismo patrón en que los efectos son mayores a medida que se aumenta la dosis y cuanto más temprana es la aplicación, la mortalidad es menor en las plantas originadas de semillas de un fragmento chico (mayor exposición histórica al glifosato) en comparación a las plantas originadas de semillas provenientes de fragmentos medianos y grandes (menor nivel de exposición al glifosato).

Por otro lado, cuando separamos a las especies según su sensibilidad al glifosato, se encontró que las poblaciones de especies tolerantes que viven en fragmentos de bosque con baja exposición al glifosato, cuando son pulverizadas con glifosato en una etapa temprana de su desarrollo, sufren una mayor reducción del crecimiento respecto a aquellas poblaciones de las mismas especies que viven en relictos de bosque nativo de menor área, y por lo tanto con un elevado grado de exposición al glifosato. Esto sugiere, tal como se manifestó más arriba, que los biotipos que viven en sitios con alta exposición al glifosato estarían siendo seleccionados y, de esta manera, su respuesta sería menos pronunciada en términos de reducción de biomasa, respecto a aquellos biotipos (de una misma especie) que viven en fragmentos de bosque de mayor área y con menor grado de exposición a la deriva de glifosato utilizado en la matriz de cultivo. Resultados similares se han descrito en trabajos previos, en relación a que la deriva de agroquímicos sobre comunidades vegetales naturales puede afectar o influir en la sensibilidad de algunas especies a los herbicidas, afectar su competitividad dentro de la comunidad, modificando así la composición de las mismas (Schmitz et al., 2014).

Como se pudo apreciar en el Capítulo III, se encontró para varias especies una reducción significativa en el crecimiento cuando el grado de exposición a los herbicidas era menor. Esto podría producir una disminución de su capacidad competitiva en relación a otras especies del sitio, lo que conduciría a un recambio de especies y modificaciones en la composición de la comunidad (Boutin et al., 2014). Por ejemplo, Boutin y Jobin (1998), demostraron que los herbicidas pueden contribuir a los cambios en las comunidades de plantas nativas adyacentes a los campos donde se cultiva intensamente, aumentando el

número de malezas tolerantes. Además, estas comunidades adyacentes pueden promover la propagación de nuevos biotipos tolerantes o resistentes al glifosato.

En las poblaciones de malezas, el desarrollo de resistencia es un proceso evolutivo en respuesta a la presión de selección ejercida por el uso repetido del mismo herbicida. Los biotipos susceptibles mueren, mientras que los resistentes sobreviven y producen semillas. Si continúa la aplicación del mismo herbicida, la proporción del biotipo resistente se incrementa en relación al biotipo susceptible (Tuesca et al., 2010). Por otro lado, las especies naturalmente tolerantes encuentran nuevos nichos para su crecimiento y desarrollo, y, por lo tanto, incrementan su frecuencia y abundancia (Sabbatini, 2004). El uso de organismos genéticamente modificados y de los herbicidas asociados a ellos, implica un impacto significativo sobre la composición florística de las malezas, ya que disminuyen la diversidad genética de la comunidad (Sabbatini, 2004).

En un trabajo de revisión realizado por Vila-Aiub et al. (2008), los autores analizan los casos documentados de evolución de la resistencia al glifosato en especies de malezas que afectan a los sistemas de cultivo de América del Sur y evalúan los avances logrados en esta área de investigación clave. Ellos destacan el avance de los organismos genéticamente modificados en Brasil y Argentina, lo que ha llevado a estos países a convertirse en los mayores productores de soja del mundo, representando casi el 50% de la producción total de soja. Mencionan que la adopción masiva (99%) de cultivares de soja resistentes al glifosato por parte de los agricultores argentinos, ha llevado a una dependencia absoluta del glifosato como la única herramienta para controlar las malezas en barbecho y campos de soja durante la última década, determinando que, al menos, en cuatro especies de malezas (*Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis*, *Euphorbia heterophylla* y *Sorghum halepense*) haya evolucionado la resistencia al glifosato en los sistemas de cultivo de soja resistentes al herbicida.

Un resultado muy interesante del presente trabajo fue la comparación entre los valores de fitotoxicidad y reducción del crecimiento registrados en el campo con los valores de estas variables registrados en plántulas en las que se aplicó un gradiente de concentraciones de glifosato en laboratorio (Capítulo II). Esto fue posible al estimar que las plantas no-blanco de los fragmentos de bosque estudiados estarían recibiendo en el borde, por pulverización directa o por deriva, al menos $\frac{1}{2}$ de la dosis de glifosato aplicada regularmente a los cultivos. Para nuestra sorpresa, no solo se pudieron detectar efectos negativos sobre las plantas en el borde de los fragmentos de bosque, sino que, además, presentaron fitotoxicidad y reducción

del crecimiento incluso hasta 80m del borde hacia el interior del bosque. Este resultado es sorprendente desde el punto de vista de la conservación de la biodiversidad, donde claramente los tratamientos con herbicidas afectaron significativamente a las plantas, tanto de especies sensibles como tolerantes, y a distancias considerables desde el punto de aplicación en los cultivos. A pesar de ello, algunas especies de plantas perennes (como *Amphilophium carolinae*) serían capaces de tolerar los daños a los herbicidas o podrían recuperarse posteriormente. Esta tendencia ya había sido reportada por otros autores previamente, por ejemplo, Marrs et al. (1989), quienes evaluaron los daños resultantes de la aplicación de glifosato y otros herbicidas, sobre plantas no-blanco a distancias crecientes del pulverizador. Aunque ellos no encontraron efectos letales a distancias mayores a los 20m, las plantas más afectadas no se recuperaron y mostraron supresión del crecimiento al final de la temporada reproductiva. De este modo, es posible que las poblaciones de una especie sensible, dañadas por una dosis baja de la deriva de herbicidas, puedan disminuir a través del tiempo, debido a la interferencia competitiva de las especies menos afectadas. Es decir, estas especies más sensibles pueden tender a desaparecer y ser sustituidas por especies tolerantes o resistentes al glifosato, y afectar de este modo la composición de especies y su densidad en las comunidades. Por otra parte, cuando aplicaron los herbicidas sobre plantas en el estadio previo a la etapa reproductiva observaron supresión tanto de la floración como de la producción de semillas, hasta 5 y 10m del pulverizador. Esto podría afectar la regeneración dentro de la comunidad y, por lo tanto, la diversidad de especies en el largo plazo (Marrs et al., 1989). Además, en muchas especies se ha encontrado que los impactos fueron mayores en el campo que en los experimentos de invernadero (Gove et al., 2007), por lo cual es posible sugerir que los factores ambientales (como las condiciones del suelo, la intensidad de la luz y la herbivoría de insectos) pueden aumentar la susceptibilidad de las plantas a los herbicidas (Gove et al., 2007).

Al analizar la variación en el conjunto de especies registradas en los fragmentos de bosque (Capítulo IV), se observó que las comunidades vegetales de los 20 sitios estudiados, presentaron valores intermedios o altos de diversidad vegetal. Además, se observó que los sitios de mayor tamaño presentan una densidad de especies de plantas vasculares (incluyendo especies nativas y no nativas) significativamente mayor que los sitios más pequeños. Se pudo apreciar que los sitios rodeados por altos porcentajes de superficie cultivada presentaron una densidad de especies de plantas vasculares significativamente menor que los fragmentos de bosque con bajo porcentaje de superficie cultivada en su paisaje

circundante. De manera similar, se pudo evidenciar, gráficamente, una diferencia en la composición de especies al comparar entre los fragmentos de tamaño pequeño y grande: los fragmentos pequeños presentaron una composición de especies diferente a la de los fragmentos grandes, pudiéndose observar en el gráfico una separación entre los polígonos del análisis NMDS que agruparon a los sitios de estas dos clases de tamaño. Los fragmentos de tamaño mediano presentaron gráficamente una composición de especies semejante a la de las restantes categorías de tamaño.

Al analizar la supervivencia de las plantas nativas, se observó que las comunidades naturales de todos los fragmentos de bosque analizados, presentaron valores comparables (Capítulo IV). Sin embargo, cuando se analizaron las posibles relaciones entre esta variable y el tamaño de los fragmentos y la superficie cultivada en el paisaje, no se evidenciaron relaciones significativas en ninguno de los casos. En trabajos previos, se ha encontrado que la supervivencia de las especies en ambientes fragmentados puede estar condicionada por atributos biológicos de las especies que les confieren particular vulnerabilidad a la fragmentación de su hábitat (Haila, 2002; Kemper et al., 1999). Entre esos atributos, algunos trabajos han evaluado la susceptibilidad de diferentes grupos de organismos a herbicidas tales como el glifosato, observando diferentes niveles de daño según las especies (Guiseppe et al., 2006). Se ha visto que muchas plantas se ven afectadas ante la exposición a estas sustancias (Sullivan y Sullivan, 2003), existiendo, en algunos casos, una disminución en la diversidad y la supervivencia de especies bajo la influencia de herbicidas (Sullivan et al., 1996). Además, dado que la vegetación está mucho más expuesta al contacto con herbicidas en las áreas de borde de los fragmentos (De Snoo y Van der Poll, 1999; Roy et al., 2003), la susceptibilidad de las especies a estas sustancias puede determinar, en cierta medida, las diferencias en la diversidad, composición y supervivencia de las especies entre los remanentes de bosque con diferente grado de exposición al glifosato.

Los resultados obtenidos en esta Tesis permitieron llevar a cabo una caracterización de la diversidad, la composición y evaluar la supervivencia de las plantas vasculares presentes en los fragmentos de bosque nativo estudiados, y analizar su relación con: a) el grado de exposición de la vegetación natural a los herbicidas utilizados en los cultivos (considerando el tamaño de los fragmentos de bosque y el porcentaje de superficie cultivada en el paisaje circundante), y b) la sensibilidad al glifosato de un grupo representativo de especies nativas allí registradas (Capítulo V). A partir de los resultados obtenidos fue posible apoyar la hipótesis general planteada en esta Tesis, en la cual se proponía encontrar relaciones entre la

diversidad, la composición y la supervivencia de las plantas nativas, y el grado de exposición de la vegetación al glifosato y/o la sensibilidad de las especies a este herbicida. En este sentido se observó que la diversidad de plantas en los fragmentos de bosque se encuentra relacionada con la susceptibilidad de las especies al glifosato. Además, se pudo apreciar una importante variación en la diversidad de especies de plantas entre los fragmentos pequeños, medianos y grandes. Se observó una mayor densidad de especies sensibles en los fragmentos grandes (con baja exposición al glifosato), mientras que en los fragmentos pequeños (alta exposición al glifosato) se apreció una mayor densidad de especies tolerantes a este herbicida.

Aunque actualmente no es posible confirmar la existencia de una relación causal entre la deriva del herbicida y los patrones observados de densidad de individuos, diversidad de especies y cambios en la composición de especies vegetales, la consistencia de los resultados entre los experimentos en invernadero y los experimentos de campo que hemos realizado, sugieren fuertemente que la deriva de herbicidas sería un factor importante que contribuye a explicar los patrones observados. En numerosos trabajos, se ha demostrado que las diferencias en la respuesta de las especies a la deriva de herbicidas (en dosis subletales) puede conducir a cambios en la composición de la comunidad vegetal (Marrs et al., 1991b; Marrs y Frost, 1997; Pitcairn et al., 1998, 2003; Pywell et al., 1996) a través de cambios en las tasas de crecimiento y la competencia por los recursos, o a través de los impactos diferenciales sobre la fecundidad y la producción de semillas (Gove et al., 2007). Por lo tanto, incluso si los impactos directos son negativos, las especies menos sensibles pueden beneficiarse indirectamente a medida que se suprimen los competidores sensibles (Pywell et al., 1996), lo que conduce a una reducción de la diversidad de comunidades de plantas en los bosques nativos (Gove et al., 2007).

La diversidad biológica brinda las posibilidades de existencia de un medio apto para la polinización, la formación y fecundidad del suelo, el control de plagas y la capacidad de adaptación de plantas y animales. Al mismo tiempo, funciona como andamiaje principal de manutención de la biosfera y sirve a la producción brindando los materiales básicos para la creación animal, agrícola, forrajera, forestal y acuífera. En este sentido, podemos identificar una fuerte interdependencia entre la recolección o producción de alimentos, por una parte, y una serie de factores biofísicos, sociales, culturales, políticos y económicos, por la otra, que se relaciona con diversos servicios ecosistémicos (Dicks et al., 2016) En la actualidad es entre

los bosques que se encuentra el depósito individual terrestre de acervo genético más importante, ya que en ellos se encuentran elevados niveles de diversidad biológica intraespecífica (López Monja et al., 2010). La relación entre el ambiente natural y la sociedad humana obliga a entender la diversidad biológica como un elemento propio de la naturaleza en interacción permanente con el proceso de producción agraria (Dicks et al., 2016; IPBES, 2016; López Monja et al., 2010).

Las funciones ecológicas que la biodiversidad proporciona a la agricultura se encuentran actualmente amenazadas por una homogeneización continua de los sistemas de cultivo (IPBES, 2016; Poggio et al., 2013). Históricamente, la expansión agrícola creó nuevos mosaicos ambientales fragmentados, convirtiendo los bosques originales y pastizales en tierras de cultivo. Sin embargo, recientemente se ha fomentado la homogeneización de las tierras de cultivo, ya que los sistemas productivos actuales han tendido hacia el monocultivo (Evans, 1998). En este contexto, la heterogeneidad de ambientes de los paisajes agrícolas se encuentra fuertemente simplificada por la intensificación de la agricultura, afectando la conservación de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos asociados (Benton et al., 2003; Burel et al., 1998; Tscharntke et al., 2005), por lo cual sería interesante reconsiderar esta prevalencia de prácticas agrícolas y cambiarlas hacia otros modelos que sean productivos y conserven la biodiversidad (Dicks et al., 2016; IPBES, 2016).

De esta manera, los efectos de los herbicidas parecen constituir otro factor estresante que afecta las interacciones entre plantas, sumado a otros factores, como las modificaciones del uso de la tierra en la escala del paisaje (Kremmen et al., 2007) que están afectando cada vez más a los agroecosistemas (Boutin et al., 2014). A partir de los antecedentes expuestos y los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral, es razonable pensar que las aplicaciones anuales continuas de productos agroquímicos en la región provocarían cambios en la comunidad de plantas nativas y probablemente conducirían a la extinción local de las especies más afectadas. Las especies con alta sensibilidad a herbicidas probablemente disminuirán su densidad o desaparecerán completamente. Las especies más tolerantes podrían dominar la comunidad vegetal después de varios años (Schmitz et al., 2014).

Considerando los resultados aquí encontrados, es posible sugerir que el sistema de manejo de malezas asociado a la soja resistente al glifosato podría conducir, por un lado, a la reducción de la complejidad del paisaje, a través de la pérdida paulatina de biodiversidad en los agroecosistemas. Por el otro, se estarían seleccionando biotipos tolerantes al glifosato

convirtiendo la dinámica de los agroecosistemas en un círculo muy problemático, también para este modelo vigente de producción agrícola industrial.

Aspectos socioeconómicos

Las medidas económicas y políticas implementadas en los últimos 30 años modificaron de forma estructural la organización agraria pampeana y extra pampeana. La aparición de nuevos actores y el rol del sector en la economía argentina consolidaron un modelo agropecuario que prioriza la exportación por sobre la producción para el consumo interno y se basa en la producción a gran escala, dependiente de insumos industriales de origen extranjero y expulsa trabajadores rurales y pequeños y medianos productores. Los principales cambios se centraron en la forma de producir en el agro, con la expansión del monocultivo, la adopción del paquete biotecnológico y el aumento de la productividad, que incidió en la estructura social y agraria (Cáceres, 2015; Giarraca y Teubal, 2013).

Por otra parte, la rentabilidad asociada a la siembra directa y las facilidades para la rápida incorporación de la soja GM (genéticamente modificada) a los cultivos permitieron convertirla no solo en el principal cultivo del país, sino en el cultivo absolutamente dominante. Con esto, Argentina avanzó rápidamente hacia el monocultivo y en poco menos de cinco años (1996-2001), el paisaje tradicional de la producción agraria argentina, con cereales y oleaginosas en la región pampeana y cultivos industriales (vid, azúcar, yerba mate, algodón, tabaco) en otras regiones, se vio drásticamente modificado (López Monja et al., 2010).

A pesar de los serios problemas que han surgido luego de la implementación de este modelo agrario, la legislación nacional que protege la biodiversidad no ha sido aplicada en forma eficiente. Si bien en 2007 se aprobó la Ley de Bosques Nativos N°26331, la situación de los bosques de la Provincia de Córdoba no solo no ha mejorado, sino que se ha agravado aún más a partir del año 2010. En ese año, se aprobó la Ley Provincial de Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (Ley Provincial N° 9814), la cual ofreció un marco legal y político aún más favorable para los grandes productores agropecuarios, dejando a los bosques nativos de Córdoba en un estado crítico de vulnerabilidad.

De esta manera, el uso de glifosato se ha acelerado aún más en esta última década (2006-2015), generando una serie de problemas alarmantes, especialmente causados por la

aparición de malezas tolerantes y resistentes, constituyendo un desafío a nivel mundial, sostener la eficacia de este sistema basado en un único paquete tecnológico y apoyado en la aplicación de productos agroquímicos a una escala creciente (Cuhra et al., 2016). Una serie de publicaciones recientes resumen los problemas y retos que representa el glifosato (Mesnage et al, 2015; Samsel y Seneff, 2015), y también los efectos de los agroquímicos sobre la producción de comida y la pérdida de biodiversidad y servicios ecosistémicos (Bourguet y Guillemaud, 2016; Dicks et al., 2016; IPBES, 2016). Algunos autores, incluso, proponen que el glifosato debe ser categorizado como un probable carcinógeno, contrariamente a las conclusiones previamente aceptadas con respecto a este herbicida (Guyton et al, 2015).

Desarrollos futuros

Como es sabido, la industria agrícola en general depende del uso continuo de pesticidas más o menos tóxicos. Esta es una normalidad generalmente aceptada para la agricultura convencional, que se ha desarrollado gradualmente desde la última guerra mundial (Alston et al., 2010) y ahora constituye una "situación de prisión agroecológica" en la que los pesticidas y otros productos químicos son actualmente inevitables para hacer la agricultura industrial rentable (Cuhra et al., 2016).

Por lo tanto, resulta necesario y urgente discutir sobre el uso actual y la magnitud de los efectos del glifosato en organismos no-blanco. Aunque las buenas prácticas agrícolas están reguladas, se necesitan mejores controles para el manejo seguro de las malezas en los cultivos, para prevenir la aparición de nuevos biotipos tolerantes y para mantener la integridad de la biodiversidad en los entornos naturales adyacentes. Las técnicas y equipos de pulverización de herbicidas, las condiciones meteorológicas durante la aplicación, las capacidades del operador, las zonas de amortiguación, etc., tienen una importancia crucial en el nivel de deriva y la sobrepulverización de herbicidas en áreas no objetivo (Nuyttens et al., 2006 a,b). Por lo tanto, a partir de los resultados de este trabajo y de trabajos previos (Gove et al., 2004; Gove et al., 2007; Marrs et al., 1991b), se concluye sobre la necesidad y la urgencia de la adopción de “zonas buffer” (no pulverizadas) lo suficientemente amplias para proteger la biodiversidad de los remanentes de bosques que están inmersos en matrices agrícolas y, de este modo, también evitar la selección de biotipos tolerantes o resistentes a este herbicida.

En la actualidad, el glifosato domina el control de las malezas en cultivos de soja, maíz, canola y algodón, en América del Norte y del Sur (Duke y Powles, 2008). Las actuales condiciones favorables del mercado internacional para los productos básicos, en combinación con los bajos precios del glifosato, indican claramente que las áreas plantadas con cultivos resistentes al glifosato (soja, maíz) seguirán aumentando, no sólo en Argentina y Brasil, sino también en otros países como Paraguay y Uruguay. Esto seguramente promoverá que las condiciones claves que favorecen los cambios evolutivos en las poblaciones de malezas (por ejemplo, la resistencia al glifosato) persistan y exacerben la situación (Vila-Aiub et al., 2008). Dado los aparentes beneficios económicos del paquete tecnológico basado en cultivos GM y glifosato, es poco probable que los productores (y muchos de los que los asesoran) diversifiquen la producción con independencia del uso de glifosato. Inevitablemente, surgirán nuevas malezas resistentes al glifosato, que amenazan la eficacia a largo plazo del herbicida más utilizado en el mundo, y la biodiversidad se verá cada vez más afectada. Este escenario puede minimizarse y manejarse a través de la introducción y el mantenimiento de la diversidad en las herramientas de control de malezas, de la diversificación de los cultivos y de un cambio profundo de las actuales prácticas agrícolas (Dicks et al., 2016; Duke y Powles, 2008, IPBES, 2016).

Los principios agroecológicos usados en el diseño y el manejo de los agroecosistemas mejoran la biodiversidad funcional de los sistemas agrícolas que es esencial para el mantenimiento de procesos inmunes, metabólicos y reguladores, claves para el funcionamiento de los agroecosistemas (Gliessman, 1998). Los principios agroecológicos toman diferentes formas tecnológicas dependiendo de las circunstancias biofísicas y socioeconómicas de cada agricultor o de cada región. Un principio clave de la agroecología es la diversificación de los sistemas agrícolas, promoviendo mezclas de variedades de cultivos, sistemas de cultivos intercalados, sistemas agroforestales, la integración animal, etc., que potencian los efectos positivos de la biodiversidad en la productividad, derivados de los crecientes efectos de la complementariedad entre las especies de plantas y animales, resultando así en un mejor aprovechamiento de la luz solar, el agua, los recursos del suelo y la regulación natural de las poblaciones de plagas. Los esquemas de diversificación agroecológica son multifuncionales, y su adopción generalmente implica cambios favorables al mismo tiempo en diversos componentes de los sistemas de producción (Gliessman, 1998). Desde principios de los años ochenta, miles de campesinos, en colaboración con ONGs y otras organizaciones, han promovido e implementado alternativas agroecológicas, como

policultivos, integración de cultivos y animales y sistemas agroforestales, que simultáneamente incrementan la producción y la conservación de los recursos naturales (Altieri, 2009).

Un análisis de varios proyectos agroecológicos durante la década de los noventa (iniciativas que involucraron a casi 100.000 unidades familiares en más de 120.000 hectáreas de tierra) mostró que combinaciones de cultivos tradicionales y animales, a menudo se pueden optimizar para aumentar la productividad mejorando la estructura biológica de la finca y haciendo una utilización eficaz de los recursos locales y de la mano de obra (Altieri, 2009). De hecho, la mayoría de las tecnologías agroecológicas promovidas por las organizaciones no gubernamentales para mejorar los rendimientos agrícolas tradicionales, generaron un aumento de la producción por unidad de superficie en las zonas marginales de 400-600 a 2000-2500kg/ha. También se logró un incremento de la biodiversidad agrícola y los efectos positivos asociados en la seguridad alimentaria y la integridad del medio ambiente (Altieri y Nicholls, 2013).

La conservación de los recursos naturales es esencial en las áreas agrícolas de Sudamérica, y los climas subtropicales requieren un adecuado manejo de los sistemas de producción para lograr la sostenibilidad de los agroecosistemas (Christoffoleti et al., 2008). La adopción de estrategias de gestión integrada para prevenir o reducir el impacto de las malezas resistentes al glifosato es fundamental para mantener sistemas agrícolas sostenibles. Sin embargo, la implementación de estas estrategias requiere un conocimiento adecuado de la genética, la fisiología y la ecología de las especies que viven en los agroecosistemas.

El esfuerzo de investigación en esta área debe ser hacia el desarrollo de estrategias económicamente viables para prevenir y manejar la resistencia, y promover la conservación de la biodiversidad en los agroecosistemas. Aunque existen trabajos que confirman el potencial de dosis muy bajas de glifosato para seleccionar fenotipos altamente resistentes en diversas malezas (Neve, 2007; Neve y Powles, 2005), este trabajo es el primer aporte respecto al posible desarrollo de tolerancia en plantas nativas que, recibiendo en forma continua bajas dosis de glifosato, pueden convertirse en potenciales malezas de los cultivos. Se necesitan más investigaciones para evaluar los efectos de las dosis bajas de glifosato en diferentes especies de plantas y para comprender los mecanismos involucrados. Este trabajo es fundamental para mejorar el conocimiento actual de la dinámica del glifosato en los sistemas de producción y para tener información precisa sobre los efectos del glifosato en las plantas no-blanco.

Actualmente, los primeros estudios toxicológicos requeridos oficialmente para el registro y aprobación del glifosato, están siendo nuevamente revisados, al cuestionarse su grado de benignidad, su clasificación y el efecto toxicológico relacionado, ya que existen numerosas evidencias sobre los efectos tóxicos en humanos, impactos ambientales indirectos, efectos sobre la flora y la fauna silvestre (Cuhra et al., 2016) y la aparición de resistencia en malezas que son su objetivo (Duke y Powles, 2008; Neve y Powles, 2005). A pesar que el herbicida sigue siendo promovido como un producto “ambientalmente amigable”, habría un peligro real de daño sobre plantas que no son objetivo del mismo, incluyendo especies en peligro de extinción. Los daños a los hábitats naturales y su destrucción pueden presentar consecuencias irreparables en los agroecosistemas. Además, otra situación conflictiva estará vinculada a los nuevos impactos generados por el fuerte cambio en el patrón de uso del herbicida, que podría hacer que una herramienta disponible para la agricultura industrial se pierda al incrementarse la resistencia en las malezas. Este proceso es inevitable, por lo que se deberá analizar inmediatamente las posibles alternativas a seguir (Pengue, 2010). Una complejidad creciente, que ha sido generada por un planteo monoprodutivo de potencial riesgo para países que, como Argentina, dejaron de lado su diversidad productiva, y hasta mellaron su propia soberanía y seguridad alimentarias.

BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, E.; Macagno, P.; Tomasini, D. 2005. Experiencia Argentina vinculada a la obtención y evaluación de indicadores de desertificación. En: Desertificación: indicadores y puntos de referencia en América Latina y el Caribe. SAyDS, GTZ, UNDC y IADIZA (Eds), Mendoza, Argentina.
- Adámoli, J; Ginzburg, R.; Torrella, S.; Herrera, S. 2004. Expansión de la frontera agrícola en la región chaqueña: el ordenamiento territorial como herramienta para la sustentabilidad. *Gerencia Ambiental*; 112: 810-823.
- Aguilar, R.; Galetto, L. 2004. Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). *Oecologia*; 138: 523-520.
- Aguilar, R.; Ashworth, L.; Galetto, L.; Aizen, M. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology letters*; 9: 968-980.
- Aizen, M. A.; Feinsinger, P. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. *Ecology*; 2: 330-351.
- Aizen, M. A.; Ashworth, L.; Galetto, L. 2002. Reproductive success in fragmented habitats: do compatibility systems and pollination specialization matter? *Journal of Vegetation Science*; 13: 885-892.
- Al-Khatib, K.; Mink, G. I.; Reisenauer, G.; Parker, R.; Westberg, H.; Lamb, B. 1993. Development of a biologically-based system for detection and tracking of airborne herbicides. *Weed Technology* 7, 404-410.
- Alpert, P.; Bone, E.; Holzapfel, C. 2000. Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*; 3: 52-66.
- Alston, J.M.; Beddow, J.M.; Pardey, P.G. 2010. "Global patterns of crop yields and other partial productivity measures and Prices,". En *The Shifting Patterns of Agricultural Production and Productivity Worldwide*, eds J.M. Alston, B.A. Babcock, and P.G. Pardey (Ames, IA: The Midwest Agribusiness Trade Research and Information Center; Iowa State University); 39-61.
- Altieri, M.A. 2001. Biotecnología agrícola. Mitos, riesgos ambientales y alternativas. En: *Sociología, capitalismo y demografía*. Madrid, Morata (Ed.)

- Altieri, M.A. 2009. Agroecology, small farms and food sovereignty. *Monthly Review*; 61: 102-111.
- Altieri, M. A.; Nicholls, C. I. 2012. Agroecología: única esperanza para la soberanía alimentaria y la resiliencia socioecológica. *Agroecología*; 2: 65-83.
- Ammann, K. 2005. Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*; 8: 388–394.
- Andreasen, C., Streibig, J.C., 2011. Evaluation of changes in weed flora in arable fields of Nordic countries – based on Danish long-term surveys. *Weed Research*; 51: 214–226.
- Arroyo-Rodríguez, V.; Pineda, E.; Escobar, F.; Benitez-Malvido, J. 2008. Value of Small Patches in the Conservation of Plant-Species Diversity in Highly Fragmented Rainforest. *Conservation Biology*; 23: 729-739.
- Arroyo-Rodríguez, V.; Rös, M.; Escobar, F.; Melo, F. P.; Santos, B. A.; Tabarelli, M.; Chazdon, R. 2013. Plant β -diversity in fragmented rain forests: testing floristic homogenization and differentiation hypotheses. *Journal of Ecology*; 6: 1449-1458.
- Arvidsson, T. 1985. Phytotoxic damage and residues of MCPA in spring rape caused by wind drift. (26th Swedish Weed Control Conference, Uppsala). *Weeds and weed control*; 1: 302-10.
- Ashworth, L.; Aguilar, R.; Galetto, L.; Aizen, M. A. 2004. Why do pollination generalist and specialist plant species show similar reproductive susceptibility to habitat fragmentation? *Journal of Ecology*; 92: 717-719.
- Asteraki, E.J.; Hart, B.J.; Ings, T.C.; Manley, W.J. 2004. Factors influencing the plant and invertebrate diversity of arable field margins. *Agriculture, Ecosystems and Environment*; 102: 219–231.
- Baev, P. V.; Penev, L. D. 1995. BIODIV: program for calculating biological diversity parameters, similarity, niche overlap, and cluster analysis. Pensoft, Sofia, Bulgaria.
- Ball, D. A. 1992. Weed seed bank response to tillage, herbicide and crop rotation sequence. *Weed Science*; 40: 654-659.
- Balme, O. E. 1954. Preliminary experiments on the effects of the selective weedkiller 2,4-D on the vegetation of roadside verges. *Proc. Br. Weed Control*; 1:219-28.
- Balme, O. E. 1956. Conclusion of experiments on the effects of the selective weedkiller 2,4-D on the vegetation of roadside verges. *Proc. Br. Weed Control*; 2: 771-8.
- Barchuk, A. H.; Barri, F.; Britos, A. H.; Cabido, M.; Fernández, J.; Tamburini, D. 2010. Diagnóstico y Perspectivas de los Bosques en Córdoba. *Revista HOY la Universidad*; 4: 52-73.

- Barri, F.R. 2013. Resistencia comunitaria de los pueblos fumigados de la Argentina. En: Las actividades extractivas en la Argentina. Actividades extractivas en expansión. ¿Reprimarización en la economía argentina? Editorial Antropofagia. Primera edición; Buenos Aires. Argentina; pp.211-220.
- Barsky, O.; Gelman, J. D. 2009. Historia del agro argentino: desde la Conquista hasta comienzos del siglo XXI. Sudamericana.
- Bartra, A. 2008. Argentina: ¿Hacia una agricultura sin agricultores? En: La Jornada del Campo, México.
- Baskin, C.C.; Baskin, J.M. 2000. Seeds. Academic Press, San Diego.
- Bastin, L.; Thomas, CD. 1999. The distribution of plant species in urban vegetation fragments. *Landscape Ecology*; 14: 493–507.
- Baucom, R.S. 2016. The remarkable repeated evolution of herbicide resistance. *American Journal of Botany*; 103: 181-183.
- Baucom, R.S.; Mauricio, R. 2008. Constraints on the evolution of tolerance to herbicide in the common morning glory: resistance and tolerance are mutually exclusive. *Evolution*; 62: 2842–2854.
- Baylis, A. 2000. Why glyphosate is a global herbicide: Strengths, weaknesses and prospects. *Pest Management Science*; 56: 299-308.
- Bell, F. W.; Lautenschlager, R. A.; Wagner, R.G; Pitt, D.G.; Hawkins, J.W.; Ride, K.R. 1997. Motor-manual, mechanical, and herbicide release affect early successional vegetation in northwestern Ontario. *Forestry Chronicle*; 73: 9-18.
- Benitez-Malvido, J. 1998. Impact of forest fragmentation on seedling abundance in a tropical rain forest. *Conservation Biology*; 12: 380-389.
- Benitez-Malvido, J.; Martínez-Ramos, M. 2003. Influence of edge exposure on tree seedling species recruitment in tropical rain forest fragments. *Biotropica*; 35: 530-541.
- Bogich, T. L.; Barker, G. M.; Mahlfeld, K.; Climo, F.; Green, R.; Balmford, A. 2012. Fragmentation, grazing and the species–area relationship. *Ecography*; 3: 224-231.
- Benton, T.G.; Vickery, J.A.; Wilson, J.D. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends Ecology Evolution*; 18: 182–188.
- Berendse, F.; Chamberlain, D.; Kleijn, D.; Schekkerman, H. 2004. Declining biodiversity in agricultural landscapes and the effectiveness of agri-environment schemes. *Ambio*; 33: 499–502.

- Bernardi, N.; Gentile, N.; Mañas, F.; Méndez, Á.; Gorla, N.; Aiassa, D. 2015. Evaluación del nivel de daño en el material genético de niños de la provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *Archivos argentinos de pediatría*; 2: 6-11.
- Blackborun, L.G.; Boutin, C. 2003. Subtle effects of herbicide use in the context of genetically modified crops: A case study with Glyphosate (Roundup®). *Ecotoxicology*; 12: 271-285.
- De Blois, S.; Domon, G.; Bouchard, A. 2002. Landscape issues in plant ecology. *Ecography*; 2: 244-256.
- Bøhn, T.; Cuhra, M.; Traavik, T.; Sanden, M.; Fagan, J.; Primicerio, R. 2014. Compositional differences in soybean on the market: Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chemistry*; 153: 207–215.
- Bolognesi, C. 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*; 3: 251-272.
- Borggaard, O.K.; Gimsing, A.L. 2008. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and Surface waters: a review. *Pest Management Science*; 64: 441–456.
- Bórtoli, P.V.; Verdenelli, R.A.; Conforto, C.; Vargas-Gil, S.; Meriles, J.M. 2012. Efectos del herbicida glifosato sobre la estructura y el funcionamiento de comunidades microbianas de dos suelos de plantaciones de olivo. *Ecología Austral*; 22: 33-42.
- Bourguet, D.; Guillemaud, T. 2016. The Hidden and External Costs of Pesticide Use. *En Sustainable Agriculture Reviews*. Springer International Publishing; 2: 35-120.
- Boutin, C.; Jobin, B. 1998. Intensity of agricultural practices and effects on adjacent habitats. *Ecological Applications*; 2: 544–557.
- Boutin, C.; Lee, H.B.; Peart, E.T.; Batchelor, P.S.; Maguire, R.J. 2000. Effects of the sulfonylurea herbicide metsulfuron methyl on growth and reproduction of five wetland and terrestrial plant species. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 19: 2532–2541.
- Boutin, C.; Elmegaard, N.; Kjaer, C. 2004. Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: implications for risk assessment. *Ecotoxicology*; 13: 349–369.
- Boutin, C.; Aya, K. L.; Carpenter, D.; Thomas, P. J.; Rowland, O. 2012. Phytotoxicity testing for herbicide regulation: Shortcomings in relation to biodiversity and ecosystem services in agrarian systems. *Science of the total environment*; 415: 79-92.

- Boutin, C., 2013. Herbicides: non-target species effect. En: Jorgensen, Encyclopedia of Environmental Management, vol II. Taylor and Francis, S.E. (Ed.), New York, pp. 1406-1417.
- Boutin, C.; Strandberg, B.; Carpenter, D.; Mathiassen, S. K.; Thomas, P. J. 2014. Herbicide impact on non-target plant reproduction: What are the toxicological and ecological implications?. *Environmental Pollution*; 185: 295-306.
- Breeze, V.; Thomas, G.; Butler, R. 1992. Use of a model and toxicity data to predict the risks to some wild plant species from drift of four herbicides. *Annals of Applied Biology*; 121: 669-677.
- Bunce, R.G.H.; Howard, D.C.; Barr, C.J.; Cummins, C.P.; French, D. 1994. Botanical diversity in British hedgerows. En: *Field Margins: Integrating Agriculture and Conservation*. BCPC Monograph No 58. Proceedings of a symposium organized by the British Crop Protection Council in association with the British Ecological Society and the Association of Applied Biologists and held at the University of Warwick Coventry on 18-20. Boatman, N. (Ed.). pp. 43–52.
- Burachik, M., 2010. Experience from Use of GMOs in Argentinian Agriculture, Economy and Environment. *New Biotechnology*; 5: 588–92.
- Burel, F.; Baudry, J.; Butet, A.; Clergeau, P.; Delettre, Y.; Le Coeur, D.; Dubs, F.; Morvan, N.; Paillat, G.; Petit, S.; Thenail, C.; Bruneel, E.; Lefeuvre, J.C. 1998. Comparative biodiversity along a gradient of agricultural landscapes. *Acta Oecología*; 19: 47–60.
- Burkart, A. 1974. *Flora Ilustrada de Entre Rios (Argentina) Parte VI: Dicotiledoneas Mataclamídeas (Gamopétalas), B: Rubiales, Cucurbitales, Campanulales (incluso Compuestas)*. Tomo 6. Buenos Aires, Colección Científica INTA. 554 pp.
- Burkart, A.; Baigalupo, N.M. 2005. *Flora Ilustrada de Entre Rios (Argentina) Parte IV: Dicotiledóneas Arquiclamídeas, B: Geraniales a Umbelliflorales*. Tomo 6. Buenos Aires, Colección Científica INTA. 627 pp.
- Bustamante, R. O.; Simonetti, J. A. 2005. Is *Pinus radiata* invading the native vegetation in central Chile? Demographic responses in a fragmented forest. *Biological Invasions*; 2: 243-249.
- Byass, J. B.; Lake, J. R. 1977. Spray drift from a tractor powered field sprayer. *Pesticide Science*; 8: 117-26.
- Cabido, M.; Carranza, M.L.; Acosta, A.; Páez, S. 1991. Contribución al conocimiento fitosociológico del Bosque Chaqueño Serrano en la provincia de Córdoba, Argentina. *Phytocoenologia*; 19:547–566.

- Cabido, M.; Zak, M. 1999. Vegetación del norte de Córdoba. SAGyRR, pp. 52.
- Cabido, M.; Zak, M. 2010. Deforestación, agricultura y biodiversidad: apuntes sobre el panorama global y la realidad de Córdoba. Revista HOY la Universidad-UNCiencia. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba.
- Cabrera, A.L. 1970. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Colección Científica INTA, Buenos Aires. 623 pp.
- Cabrera, A. L. 1976. Regiones fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. ACME (eds.) 2da edición (2). Buenos Aires. 85 pp.
- Cáceres, D. M. 2015. Accumulation by Dispossession and Socio-Environmental Conflicts Caused by the Expansion of Agribusiness in Argentina. *Journal of Agrarian Change*; 1: 116-147.
- Cáceres, D.M., G. Soto, G. Ferrer, F. Silvetti; C. Bisio, 2010. La expansión de la agricultura industrial en Argentina central: su impacto en las estrategias campesinas. *Cuadernos de Desarrollo Rural*; 64: 91–119.
- Caglar, S.; Kolayanka, D. 2008. The effect of sub-acute and sub-chronic exposure of rats to the glyphosate-based herbicide Roundup. *Environmental Toxicology and Pharmacology*; 25: 57-62.
- Capitanelli, R. G. 1979. Geografía física de Provincia de Córdoba. Editorial Boldt, Buenos Aires. Clima; 45-138
- Cavalcante, D. G. S. M.; Martinez, C. B. R.; Sofia, S. H. 2008. Genotoxic effects of Roundup® on the fish *Prochilodus lineatus*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*; 1: 41-46.
- Carey, P.D.; Fitter, A.H.; Watkinson, A.R. 1992. A field-study using the fungicide Benomyl to investigate the effect of mycorrhizal fungi on plant fitness. *Oecologia*; 4: 550-555.
- Carpenter, D.; Boutin, C. 2010. Sublethal effects of the herbicide glufosinate ammonium on crops and wild plants: short-term effects compared to vegetative recovery and plant reproduction. *Ecotoxicology*; 19: 1322–1336.
- Casas, R. 2001. La conservación de los suelos y la sustentabilidad de los sistemas agrícolas. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Buenos Aires. 247 pp.
- Cauble K.; Wagner R.S. 2005. Sublethal effects of the herbicide glyphosate on amphibian metamorphosis and development. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 75: 429-435.

- Christoffoleti, P.J.; Galli, A.J.B.; Carvalho, S.J.P.; Moreira, M.S.; Nicolai, M.; Foloni, L.L.; Martins, B.A.B.; Ribeiro, D. N. 2008. Glyphosate sustainability in South American cropping systems. *Pest Management Science*; 4: 422-427.
- Chopra, A.K.; Sharma, M.K.; Chamoli, S. 2011. Bioaccumulation of organochlorine pesticides in aquatic system – an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*; 173:905–916
- Civeira, G. 2012. Recopilación sobre los efectos del Glifosato en Agroecosistemas. Instituto de Suelos, INTA Castelar, Argentina.
- Comisión Europea, 2002. Guidance document on terrestrial ecotoxicology. Draft Working Document Sanco/10329/2002, Luxembourg; pp.2002.
- Colwell, R. K.; Coddington, J. A. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*; 1311: 101-118.
- Conacher, J.; Conacher, A. 1986. Herbicides in agriculture: minimum tillage, science and society. University of Western Australia, Nedlands, Australia. GEOWEST No. 22.
- Condit, R.; Pitman, N.; Leigh, E. G.; Chave, J.; Terborgh, J.; Foster, R. B.; Muller-Landau, H. C. 2002. Beta-diversity in tropical forest trees. *Science*; 5555: 666-669.
- Cortés, E.; Venier, F. 2012. Alternativas de control de *Conyza bonariensis* (L. Cronquist) (rama negra) – Implementación del doble knock down (DKD). Hoja Informativa.Nº 22. Ediciones del INTA. UEEA San Francisco. Argentina.
- Coupland D, Caseley JC. 1979. Presence of ¹⁴C activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with ¹⁴C-labelled glyphosate. *New Phytologist*; 83: 17- 22.
- Cuhra, M.; Traavik, T.; Bøhn, T. 2013. Clone-and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*; 2: 251-262.
- Cuhra, M. 2015. Review of GMO safety assessment studies: glyphosate residues in Roundup Ready crops is an ignored issue. *Environmental Sciences Europe*; 27: 1–14.
- Cuhra, M.; Bøhn, T.; Cuhra, P. 2016. Glyphosate: Too Much of a Good Thing? *Frontiers of Environmental Science*; 28: 1-14
- Culpepper, A. S.; Grey, T. L.; Vencill, W. K.; Kichler, J. M.; Webster, T. M.; Brown, S. M.; Hanna, W. W. 2006. Glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia. *Weed Science*; 4: 620-626.

- Dallegrave, E.; Mantese, F.D.; Coelho, R.S.; Pereira, J.D.; Dalsenter, P.R.; Langeloh, A. 2003. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate. Roundup® in Wistar rats. *Toxicol Letters*; 142: 45-52.
- Debinski, D. M.; Holt, R. D. 2000. A Survey and Overview of Habitat Fragmentation Experiments. *Conservation Biology*; 14: 342-355.
- Defarge, N.; Takács, E.; Lozano, V.L.; Mesnage, R.; Vendômois, J.S.; Seralini, G.E. 2016. Co-formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels. *International Journal of Environmental Research and Public Health*; 13: 264.
- DeFries, R. S.; Foley, J.A.; Asner, G.P. 2004. Land-use choices: balancing human needs and ecosystem function. *Frontiers in Ecology and the Environment*; 2: 249-257.
- De Jong, F.M.W.; De Snoo, G.R.; Van de Zande, J.C. 2008. Estimated nationwide effects of pesticide spray drift on terrestrial habitats in the Netherlands. *Journal of Environmental Management*; 86: 721–730.
- Dellaferrera, I. 2013. Mecanismos de tolerancia al glifosato en *Parietaria debilis* y *Petunia axillaris*. Tesis para optar por el grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Litoral Facultad de Ciencias Agrarias. Esperanza, Santa Fe, Argentina.
- De Snoo, G.R. 1999. Unsprayed field margins: effects on environment, biodiversity and agricultural practice. *Landscape Urban Plann*; 46: 151-160.
- De Snoo, G.R.; Tamis, W.L.M.; Van der Poll, R.J. 2003. Non target plant field study: effects of glufosinate ammonium on off crop vegetation. Report number 161. Centre of Environmental Science, Leiden, The Netherlands.
- De Snoo, G. R.; Van der Poll, R. J. 1999. Effect of herbicide drift on adjacent boundary vegetation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*; 73: 1–6.
- Díaz Vélez, M. C.; Silva, W. R.; Pizo, M. A.; Galetto, L. 2015. Movement Patterns of Frugivorous Birds Promote Functional Connectivity among Chaco Serrano Woodland Fragments in Argentina. *Biotropica*; 4: 475-483.
- Dicks, L. V.; Wright, H. L.; Ashpole, J. E.; Hutchison, J.; McCormack, C. G.; Livoreil, B.; Zulka, K.P.; Sutherland, W. J. 2016. What works in conservation? Using expert assessment of summarised evidence to identify practices that enhance natural pest control in agriculture. *Biodiversity and Conservation*; 25: 1383- 1399.

- Didham, R.K.; Tylianakis, J.M.; Gemmell, N.J.; Rand, T.A.; Ewers, R.E. 2007. Interactive effects of habitat modification and species invasion on native species decline. *Trends in Ecology and Evolution*; 9: 489-496.
- Didham, R.K. 2010. Ecological Consequences of Habitat Fragmentation. En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. Jhon Wiley & Sons, Ltd: Chichester.
- Diez De Ulzurrun, P.; Leaden, M.I. 2012. Sensitivity analysis of *Lolium multiflorum* biotypes to Glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides. *Planta daninha*; 3: 667-673.
- Dirkse, G. M.; Martakis, G. F. P. 1998. Species density of phanerogams and bryophytes in Dutch forests. *Biodiversity & Conservation*; 2: 147-157.
- Dixon, F.L.; Clay, D.V.; Willoughby, I. 2002. Susceptibility of woodland plants to herbicide drift. *Quarterly Journal of Forestry*; 1: 32–36.
- Druille, M. 2007. Efectos directos e indirectos del herbicida glifosato sobre los hongos micorrícicos arbusculares en pastizales de la Pampa Deprimida. Tesis Doctoral para optar por el título de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Universidad de Buenos Aires. IFEVA-CONICET-FAUBA.
- Duke, S. O.; Powles, S. B. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science*; 64:319–325.
- Dunning, J. B.; Danielson, B. J.; Pulliam, H. R. 1992. Ecological processes that affect populations in complex landscapes. *Oikos*; 169-175.
- Echeverría, C.; Newton, A. C.; Lara, A.; Rey Benayas, J. M.; Coomes, D. A. 2007. Impacts of forest fragmentation on species composition and forest structure in the temperate landscape of southern Chile. *Global Ecology and Biogeography*; 16: 426-439.
- Eddleston, M.; Karalliedde, L.; Buckley, N.; Fernando, R.; Hutchinson, G.; Isbister, G.; Sheriff, R. 2002. Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticides list. *The Lancet*; 9340: 1163-1167.
- Egan, J. F.; Bohnenblust, E.; Goslee, S.; Mortensen, D.; Tooker, J. 2014. Herbicide drift can affect plant and arthropod communities. *Agriculture, Ecosystems & Environment*; 185: 77-87.
- Egan, J. F.; Mortensen, D.A. 2012. A comparison of land-sharing and land-sparing strategies for plant richness conservation in agricultural landscapes. *Ecology Applied*; 22: 459–471.
- Eker, S.; Ozturk, L.; Yazici, A.; Erenoglu, B.; Romheld, V.; Cakmak, I. 2006. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in

- sunflower (*Helianthus annuus L.*) plants. Journal of agricultural and food chemistry; 26: 10019-10025.
- Elliott, J. M.; Wilson, B. J. 1983. The Influence of the Weather on the Efficiency, and Safety of Pesticide Application: The Drift of Herbicides. (BCPC occasional publication No. 3.) BCPC, London.
- Evans, L.T. 1998. Feeding the Ten Billion. Plants and Population Growth. Cambridge University Press, Cambridge.
- Evia, G.; Gudynas, E. 2000. Agropecuaria y ambiente en Uruguay: valor agregado ambiental y desarrollo agropecuario sustentable (No. 504.53 EVI).
- Fahrig, L. 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics; 34:487-515.
- Fahrig, L. 2013. Rethinking patch size and isolation effects: the habitat amount hypothesis. Journal of Biogeography; 9: 1649-1663.
- FAO. 2004. FAOSTAT. Forestry database. Food and Agriculture Organization, ROME. <http://faostat.fao.org>.
- Feinsinger, P. 2001. Designing field studies for biodiversity conservation. The Nature Conservancy e Island Press (ed.) Washington DC, EEUU. pp 212.
- Feinsinger, P. 2012. Lo que es, lo que podría ser y el análisis e interpretación de los datos de un estudio de campo. Ecología en Bolivia; 1: 1-6.
- Felsot, A.S.; Bhatti, M.A.; Mink, G.I. 1996. Using sentinel plants as biomonitors of herbicide drift and deposition. Journal of Environmental Science and Health; 31: 831–845.
- Feng, P. C. C.; Baley, J.G.; Clinton, W. P.; Bunkers, G. J.; Alibhai, M.F.; Paulitz, T.C.; Kidwell, K.K. 2005. Glyphosate inhibits rust diseases in glyphosate-resistant wheat and soybean. PNAS; 48: 17290–17295.
- Fernandez-Cornejo, J.; Wechsler, S.; Livingston, M.; Mitchell, L. 2014. Genetically engineered crops in the United States. USDA-ERS Economic Research Report, (162).
- Ferreras, A.; Torres, C.; Galetto, L. 2008. Fruit dispersal of an invasive species (*Ligustrum lucidum*) in a fragmented landscape. Journal of Arid Environments; 72: 1573-1580.
- Firbank, L.G.; Petit, S.; Smart, S.; Blain, A.; Fuller, R.J. 2008. Assessing the impacts of agricultural intensification on biodiversity: a British perspective. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences Royal Society (Great Britain); 363: 777–787.
- Fischer, J.; Lindenmayer, D. B. 2007. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. Global Ecology and Biogeography; 3: 265-280.

- Fletcher, J.J.S.; Pfleeger, T.T.G.; Ratsch, H.H.C.; Hayes, R.R. 1996. Potential impact of low levels of chlorsulfuron and other herbicides on growth and yield of nontarget plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 7: 1189–1196.
- Flohre, A.; Fischer, C.; Aavik, T.; Bengtsson, J.; Berendse, F.; Bommarco, R.; Emmerson, M. 2011. Agricultural intensification and biodiversity partitioning in European landscapes comparing plants, carabids, and birds. *Ecological Applications*; 5: 1772–1781.
- Foley, J.A.; DeFries, R.; Asner, G.P.; Barford, C.; Bonan, G.; Carpenter, S.R.; Chapin, F.S.; Coe, M.T.; Daily, G.C.; Gibbs, H.K.; Helkowski, J.H.; Holloway, T.; Howard, E.A.; Kucharik, C.J.; Monfreda, C.; Patz, J.A.; Prentice, I.C.; Ramankutty, N.; Snyder, P.K. 2005. Global consequences of land use. *Science*; 309: 570–574.
- Frank, F.; Ricard, F.; Viglizzo, E. 2014. Cambios en el uso de la tierra y emisión de Gases Efecto Invernadero. En: Cambios en el uso de la tierra y degradación de suelos. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Presidencia de la Nación, Argentina; 3: 25.
- Freemark, K.; Boutin, C. 1995. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: a review with special reference to North America. *Agriculture, Ecosystems & Environment*; 2: 67–91.
- Galetto, L.; Aguilar, R.; Musicante, M.; Astegiano, J.; Ferreras, A.; Jausoro, M.; Torres, C.; Asworth, L.; Eynard, C. 2007. Fragmentación de hábitat, polinizadores y éxito reproductivo de plantas nativas en el Bosque Chaqueño de Córdoba, Argentina. *Ecología Austral*; 17: 67:80.
- García-Torres, L.; Fernández-Quintanilla, C. 1989. Fundamentos sobre las malas hierbas y herbicidas. Coedición Ministerios de Agricultura, pesca y alimentación Servicio de extensión agraria y Ediciones Mundi-Prensa, España.
- Gardner, A. 2009. Adaptation as organism design. *Biology Letters*; 6: 861–864.
- Garthwaite, D.G.; Thomas, M.R.; Dawson, A.; Stoddart, H. 2003. Pesticide Usage Survey Report Arable Crops in Great Britain. Pesticide Usage Survey Group, DEFRA. HMSO, London, UK.
- Gaston, K. J. 1994. What is rarity? The concept of rarity and rare species. Springer (eds.) Netherlands. 1–21 pp.
- Gavier, G.I.; Bucher, E.H. 2004. Deforestación de las Sierras Chicas de Córdoba (Argentina) en el periodo 1970–1997. *Misceláneas Academia Nacional de Ciencias*; 101:3–27.

- Giarracca, N., Teubal, M. 2010. Disputas por los territorios y recursos naturales: el modelo extractivo. *Revista Alasru (Nueva Epoca)*; 5: 113–34.
- Giarracca, N.; Teubal, M., 2008. Del desarrollo agroindustrial a la expansión del “agronegocio”: el caso argentino. En: Bernardo Mancano Fernandes (Org.) *Campesinato e agronegocio na América Latina: a questao agraria actual*, Sao Pablo, CLACSO.
- Giarracca, N.; Teubal, M., 2013. Las actividades extractivas en la Argentina. *Actividades extractivas en expansión. ¿Reprimarización en la economía argentina?* Editorial Antropofagia. Primera edición. Buenos Aires. Argentina.
- Gibson, L.; Lee, T. M.; Koh, L. P.; Brook, B. W.; Gardner, T. A.; Barlow, J.; Sodhi, N. S. 2011. Primary forests are irreplaceable for sustaining tropical biodiversity. *Nature*; 7369: 378-381.
- Gil, Y.; Sinfort, C. 2005. Emission of pesticides to the air during sprayer application: a bibliographic review. *Atmospheric Environment, Elsevier*; 39:5183–5193.
- Giorgis, M. A.; Cingolani, A.M.; Chiarini, F.; Chiapella, J.; Barboza, G.; Ariza Espinar, L.; Cabido, M. 2011. Composición florística del Bosque Chaqueño Serrano de la provincia de Córdoba, Argentina. *Kurtziana*; 1: 9-43.
- Gliessman, S.R. 1998. *Agroecology: ecological process in sustainable agriculture*. Ann Arbor Press, Michigan.
- Gluszczak, L.; Miron, D.S.; Moraes, B.S.; Simões, R.R.; Schetinger, M.R.C.; Morsch, V.M.; Loro, V.L. 2007. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*; 146: 519-524.
- Gomes, M.P.; Soares, A.M.; Garcia, Q.S. 2014. Phosphorous and sulfur nutrition modulate antioxidant defenses in *Myracrodruon urundeuva* plants exposed to arsenic. *Journal of hazardous materials*; 276: 97- 104.
- González -Torralva F.; Cruz - Hipolito F.; Bastida N.; Mulleder, R.J. Smeda; De Prado, R. 2010. Differential susceptibility to glyphosate among the Conyza weed species in Spain. *Journal of agricultural and food chemistry*; 7: 4361–4366.
- Gotelli, N. J.; Colwell, R.K. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology letters*; 4: 379-391.
- Gove, B. 2004. The impact of pesticide spray drift and fertilizer over-spread on the ground flora of ancient woodland. PhD Thesis. Imperial College London, London, UK.

- Gove, B., Ghazoul, J., Power, S.A., Buckley, G.P. 2004. The Impacts of Pesticide Spray Drift and Fertiliser Over-Spread on the Ground Flora of Ancient Woodland. Report No. 614. English Nature, Peterborough, UK.
- Gove, B.; Power, S.A.; Buckley, G.P.; Ghazoul, J. 2007. Effects of herbicide spray drift and fertilizer overspread on selected species of woodland ground flora: comparison between short-term and long-term impact assessments and field surveys. *Journal of Applied Ecology*; 44: 374–384.
- Grilli, G.; Galetto, L. 2009. Remoción de frutos de una especie invasora (*Lantana camara* L.) en el Bosque Chaqueño de Córdoba (Argentina). *Ecología Austral*; 2: 149-156.
- Grilli, G.; Urcelay, C.; Galetto, L. 2012. Forest fragment size and nutrient availability: complex responses of mycorrhizal fungi in native–exotic hosts. *Plant Ecology*; 1: 155-165.
- Grilli, G.; Urcelay, C.; Galetto, L. 2013. Linking mycorrhizal fungi and soil nutrients to vegetative and reproductive ruderal plant development in a fragmented forest at central Argentina. *Forest Ecology and Management*; 310: 442-449.
- Grilli, G.; Urcelay, C.; Longo, M. S.; Galetto, L. 2014. Mycorrhizal fungi affect plant growth: experimental evidence comparing native and invasive hosts in the context of forest fragmentation. *Plant Ecology*; 12: 1513-1525.
- Grover, R.; Kerr, L. A.; Maybank, J.; Yoshida, K. 1978. Field measurements of droplet drift from ground sprayers: I. Sampling, analytical and data integration techniques. *Can. Journal Plant Science*; 58: 611-22.
- Guiseppe, K. F. L.; Drummond, F. A.; Stubbs, S.; Woods, S. 2006. The use of glyphosate herbicides in managed forest ecosystems and their effects on non-target organisms with particular reference to ants as bioindicators. *Maine Agricultural and Forest Experiment Station Technical Bulletin*; 192: 1-33.
- Gurrutxaga San Vicente, M.; Lozano Valencia, P. 2008. Ecología del Paisaje. Un marco para el estudio integrado de la dinámica territorial y su incidencia en la vida silvestre. *Estudios Geográficos*; 69:519-543.
- Gustafson, E. J. 1998. Quantifying landscape spatial pattern: what is the state of the art? *Ecosystems*; 2: 143-156.
- Guyton, K.Z.; Loomis, D.; Grosse, Y.; El Ghissassi, F.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N. 2015. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*; 16:490–491.

- Hahn, M.; Lenhardt, P.; Brühl, C.A. 2014. Characterization of field margins in intensified agro-ecosystems – why narrow margins should matter in terrestrial pesticide risk assessment and management. *Integrated Environmental Assessment and Management* <http://dx.doi.org/10.1002/ieam.1535>.
- Haila, Y. 2002. A conceptual genealogy of fragmentation research: from island biogeography to landscape ecology. *Ecological Applications*; 12: 321-334.
- Hails, R.S. 2002. Assessing the risks associated with new agricultural practices. *Nature*; 418: 685–688.
- Hanski, I. 2015. Habitat fragmentation and species richness. *Journal of Biogeography*; 5: 989-993.
- Harper, K. A.; Macdonald, S. E.; Burton, P.J.; Chen, J.; Brosnahan, K.D.; Saunders, S.C.; Euskirchen, E.S.; Roberts, D.; Jaiteh, M.S.; Esseen, P. 2005. Edge influence on forest structure and composition in fragmented landscapes. *Conservation Biology*; 19: 768-782.
- Harrison, S.; Cornell, H. 2008. Toward a better understanding of the regional causes of local community richness. *Ecology Letters*; 11: 969–979.
- Hartley, G. S.; Graham-Bryce, I. J. 1980. *Physical Principles of Pesticide Behaviour*, 2 vols. Academic Press, London.
- Harvey, D. 2004. *The New Imperialism: Accumulation by Dispossession*. The Socialist Register, Merlin Press.
- Heap, I.M. 2015. International survey of herbicide resistant weeds. Disponible en: <<http://www.weedscience.com>>
- Herm, M.; Honnay, O.; Firbank, L.; Grashof-Bokdam, C.; Lawesson, J. E. 1999. An ecological comparison between ancient and other forest plant species of Europe, and the implications for forest conservation. *Biological conservation*; 1: 9-22.
- Hess, M.; Barralis, G.; Bleiholder, H.; Buhr, L.; Eggers, T.; Hack, H.; Stauss, R. 1997. Use of the extended BBCH scale—general for the descriptions of the growth stages of mono; and dicotyledonous weed species. *Weed Research*; 6: 433–441.
- Hill, J. L.; Curran, P. J. 2001. Species composition in fragmented forests: conservation implications of changing forest area. *Applied Geography*; 21: 157-174.
- Hill, B.D.; Harker, K.N.; Hasselback, P.; Moyer, J.R.; Inaba, D.J.; Byers, S.D. 2002. Phenoxy herbicides in Alberta rainfall: potential effects on sensitive crops. *Can. J. Plant Science*; 82: 481–484.

- Hill, J. L.; Curran, P. J. 2005. Fragment shape and tree species composition in tropical forests: a landscape level investigation. *African Journal of Ecology*; 43:35–43.
- Holm, L.; Doll, J.; Holm, E.; Pancho, J.; Herberger, J. 1997. *World Weeds: Natural Histories and Distribution*. Wiley.
- Holt, H. A.; Voeller, J. E.; Young, J. F.; Williams, R. A.; Wright, W. G.; Reiner, C. A.; Nation, W. G. 1976. Drift of Tordon 155 mixture in a dormant season mist blower application. *Down to Earth*; 1: 1–16.
- Honnay, O.; Hermy, M.; Coppin, P. 1999. Effects of area, age and diversity of forest patches in Belgium on plant species richness, and implications for conservation and reforestation. *Biological Conservation*; 87:73-84.
- Honeycutt, Z.; Rowlands, H. 2014. Glyphosate Testing Report: Findings in American Mothers' Breast Milk, Urine and Water. Moms Across America. Disponible on line en: http://www.momsacrossamerica.com/glyphosate_testing_results
- Hoshino, A.; Yoshihara, Y.; Sasaki, T.; Okayasu, T.; Jamsran, U.; Okuro, T.; Takeuchi, K. 2009. Comparison of vegetation changes along grazing gradients with different numbers of livestock. *Journal of Arid Environments*; 73:687-690.
- Howe, C.M.; Berrill, M.; Pauli, B.; Helbing, C.C.; Werry, K.; Veldhoen, N. 2004. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 8: 1928-1938.
- Hoyos, L.E.; Cingolani, A.M.; Zak, M.R.; Vaieretti, M.V.; Gorla, D.E.; Cabido, M.R. 2013. Deforestation and Precipitation Patterns in the Arid Chaco Forests of Central Argentina. *Applied Vegetation Science*; 16: 260–71.
- Huang, X.; Fong, S.; Deanovic, L.; Young, T.M. 2005. Toxicity of herbicides in highway runoff. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 24: 2336-2340.
- Hull, H.; Morton, H.; Warrie, J. 1975. Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration. *The Botanical Review*; 41: 421–452.
- Iida, S.; Nakashizuka, T. 1995. Forest fragmentation and its effect on species diversity in sub-urban coppice forests in Japan. *Forest Ecology and Management*; 1: 197-210.
- INDEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2006. Censo Nacional Agropecuario 1960, 1988, 2002. <http://www.indec.mecon.ar/>.
- InfoStat versión 2016. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

- IPBES, 2016. The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. (IPBES), Bonn, Germany.
- Isaacs, R.; Tuell, J.; Fiedler, A.; Gardiner, M.D.; Landis, D. 2009. Maximizing arthropod-mediated ecosystem services in agricultural landscapes: the role of native plants. *Front. Ecology Environmental*; 7: 196–203.
- Jacquemyn, H.; Butaye, J.; Hermy, M. 2001. Forest plant species richness in small, fragmented mixed deciduous forest patches: the role of area, time and dispersal limitation. *Journal of Biogeography*; 28: 801-812.
- Janzen, H. 2004. Carbon cycling in earth systems—a soil science perspective. *Agriculture Ecosystems and Environment*; 104:399–417.
- Jiraungkoorskul, W.; Upatham, E.S.; Kruatrachue, M.; Sahaphong, S.; Vichasri-Grams, S.; Pokethitiyook, P. 2003. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Toxicology*; 18: 260-267.
- Jobin, B.; Boutin, C.; Desgranges, J.L. 1997. Effects of agricultural practices on the flora of hedgerows and woodland edges in southern Quebec. Canada. *J. Plant Science*; 77: 293-299.
- Joyce, R. J. V. 1985. Application from the air. In *Pesticide Application: Principles and Practice*, ed. P. T. Haskell. Clarendon Press, Oxford, pp. 118-52.
- Joyce, R. J. V.; Spillman, J. J. 1979. Discussion of aerial application techniques. En: *Control of Pine Beauty Moth by Fenitrothion in Scotland, 1978*, ed. A. V. Holden & D. Bevan (Occasional paper No. 4). Forestry Commission, Edinburgh, pp. 13-24.
- Jules, E. S.; Shahani, P. 2003. A broader ecological context to habitat fragmentation: Why matrix habitat is more important than we thought. *Journal of Vegetation Science*; 14: 459-464.
- Kareiva, P.; Wennergren, U. 1995. Connecting landscape patterns to ecosystem and population processes. *Nature*; 6512: 299-302.
- Karp, D.S.; Rominger, A.J.; Zook, J.; Ranganathan, J.; Ehrlich, P.R.; Daily, G.C. 2012. Intensive agriculture erodes β -diversity at large scales. *Ecology Letters*; 15: 963–970.
- Kemper, J.; Cowling, R. M.; Richardson, D. M. 1999. Fragmentation of South African renosterveld shrublands: effects on plant community structure and conservation implications. *Biological Conservation*; 2: 103-111.

- Kielak, E.; Sempruch, C.; Mioduszevska, H.; Klocek, J.; Leszczytski, B. 2011. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor* L.) as a model plant. *Pesticide Biochemistry and Physiology*; 99: 237- 243.
- Kjaer, C.; Strandberg, M.; Erlandsen, M. 2006. Metsulfuron spray drift reduces fruit yield of hawthorn (*Crataegus monogyna* L.). *Science of the Total Environment*; 356: 228–234.
- Kleffman Group, 2012. Mercado argentino 2011 de productos fitosanitarios. Buenos Aires: Kleffman Group.
- Kleijn, D.; Snoeijs G. I. J. 1997. Field boundary vegetation and the effects of agrochemical drift: botanical change caused by low levels of herbicide and fertilizer. *Journal of Applied Ecology*; 34:1413-1425.
- Kleijn, D.; Verbeek, M. 2000. Factors affecting the species composition of arable field boundary vegetation. *Journal of Applied Ecology*; 37: 256–266.
- Koger, C.H.; Poston, D.H.; Hayes, R.M.; Montgomery, R.F. 2004. Glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. *Weed Technology*; 18: 820-825.
- Kolb, A.; Diekmann, M. 2005. Effects of life-history traits on responses of plant species to forest fragmentation. *Conservation Biology*; 3: 929-938.
- Kollmann, J.; Schneider, B. 1999. Landscape structure and diversity of fleshy-fruited species at forest edges. *Plant Ecology*; 1: 37-48.
- Kremer, R.J.; Means, N.E. 2009. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *European Journal of Agronomy*; 31: 153- 161.
- Kremmen, C.; Williams, N.M.; Aizen, M.A.; Gemmill-Herren, B.; LeBuhn, G.; Minckley, R.; Packer, L.; Potts, S.G.; Roulston, T.; Steffan-Dewenter, I.; Vázquez, D.P.; Winfree, R.; Adams, L.; Crone, E.E.; Greenleaf, S.S.; Keitt, T.H.; Klein, A.M.; Regetz, J.; Ricketts, T.H. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*; 10: 299- 314.
- Krüger, M.; Schrod, W.; Neuhaus, J.; Shehata, A.A. 2013. Field investigations of glyphosate in urine of Danish dairy cows. *Journal of Analytical Toxicology*; 3:100-186.
- Krüger, M.; Schrödl, W.; Pedersen, I.; Shehata, A.A. 2014. Detection of glyphosate in malformed piglets. *Journal of Analytical Toxicology*; 4:1–2.
- Kuester, A.; Baucom, R.S.; Chang, S.M. 2015. The geographic mosaic of herbicide resistance evolution in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*: Evidence for

- resistance hotspots and low genetic differentiation across the landscape. *Evolutionary Applications*; 1–44.
- Kühne, S.; Freier, B. 2001. Saumbiotopie in Deutschland - ihre historische Entwicklung, Beschaffenheit und Typisierung. Biozönosen in Saumbiotopen in landwirtschaftlichen Einflussbereichen: Beeinflussung durch Pflanzenschutzmitteleinträge? Mitteilung der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, Germany.
- Lacerda, A.L.S.; Filho R., V. 2004. Curvas dose-resposta em espécies de plantas daninhas com o uso do herbicida glyphosate. *Bragantia*, Campinas; 1: 73-79.
- Lajmanovich, R.C.; Sandoval, M.T.; Peltzer, P.M. 2003. Induction of Mortality and Malformation in *Scinax nasicus* Tadpoles Exposed to Glyphosate Formulations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 70: 612-618.
- Laurance, W. F.; Ferreira, L. V.; Rankin-de Merona, J. M.; Laurance, S. G. 1998. Rain forest fragmentation and the dynamics of Amazonian trees. *Ecology*; 79: 2032-2040.
- Laurance, W. F. 2000. Do edge effects occur over large spatial scales? *Trends in Ecology and Evolution*; 15: 134-135.
- Laurance, W.F.; Lovejoy, T.E.; Vasconcelos, H.L.; Bruna, E.M.; Didham, R.K.; Stouffer, P.C.; Gascon, C.; Bierregaard, R.O.; Laurance, S.G.; Sampaio, E. 2002. Ecosystem decay of Amazonian forest fragments: a 22-year investigation. *Conservation Biology*; 3: 605-618.
- Laurance, W. F.; Nascimento, H. E.; Laurance, S. G.; Andrade, A. C.; Fearnside, P. H.; Ribeiro, J. E.; Capretz, R. L. 2006. Rain forest fragmentation and the proliferation of successional trees. *Ecology*; 87: 469-482.
- Laursen, L. 2010. How Green Biotech Turned White and Blue. *Nature Biotechnology*; 5: 393–5.
- Lawton, J. H. 1999. Are there general laws in ecology? *Oikos*; 177-192.
- Leguizamón, E.; Ferrari, G. 2005. Relevamiento de las comunidades de malezas en sistemas de producción de soja bajo siembra directa. Soja en siembra directa. *Revista Técnica AAPRESID*: 124–127, Argentina.
- Liira, J.; Schmidt, T.; Aavik, T.; Arens, P.; Augenstein, I.; Bailey, D.; Billeter, R.; Bukacek, R.; Burel, F.; De Blust, G.; De Cock, R.; Dirksen, J.; Edwards, P.J.; Hamersky, R.; Herzog, F.; Klotz, S.; Kuhn, I.; Le Coeur, D.; Miklova, P.; Roubalova, M.; Schweiger, O.; Smulders, M.J.M.; Van Wingerden, W.; Bugter, R.; Zobel, M. 2008. Plant functional group composition and large-scale species richness in European agricultural landscapes. *Journal of Vegetation Science*; 19: 3–14

- Lockwood, J. L.; Hoopes, M.F.; Marchetti, M.P. 2007. *Invasion Ecology*. Blackwell Publishing, Malden, MA. USA. 304 pp.
- Londo, J. P.; McKinney, J.; Schwartz, M.; Bollman, M.; Sagers, C.; Watrud, L. 2014. Sub-lethal glyphosate exposure alters flowering phenology and causes transient male-sterility in *Brassica* spp. *BMC plant biology*; 1: 70.
- López, S. L.; Aiassa, D.; Benitez-Leite, S.; Lajmanovich, R.; Manas, F.; Poletta, G.; Sanchez, N.; Simoniello, M. F.; Carrasco, A. E. 2012. Pesticides used in South American GMO-based agriculture: A review of their effects on humans and animal models. *Advances in Molecular Toxicology*; 6: 41-75.
- López Monja, C.; Poth, C.; Perelmutter, T. 2010. El avance de la soja transgénica: ¿Progreso científico o mercantilización de la vida?: Un análisis crítico de la biotecnología en Argentina. Primera edición. Ediciones del CCC Centro Cultural de la Cooperativa Floreal Gorini. Buenos Aires, Argentina.
- Luti, R. 1979. Geografía física de la provincia de Córdoba. Buenos Aires, Argentina. Editorial Boldt, 268-297.
- Magurran, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press, New Jersey.
- Magurran, A.E.; McGill, B.J. 2010. *Biological diversity: frontiers in measurement and assessment* Vol. 12. Oxford University Press (eds.) Oxford. 368 pp.
- Malpassi, R. 2004. Efecto de la aplicación de herbicidas sobre la morfología y anatomía de *Eleusine indica* (L.) Gaertner y *Portulaca oleracea* L.
- Mann, R. M.; Bidwell, J. R. 1999. The toxicity of glyphosate and several glyphosate formulations to four species of southwestern Australian frogs. *Archives of environmental contamination and toxicology*; 2: 193-199.
- Manuel-Navarrete, D; Gallopín, G.; Blanco, M.; Díaz-Zorita, M.; Ferraro, D.; Herzer, H.; Laterra, P.; Morello; M Murmis; W Pengue; M Piñeiro; G Podestá; EH Satorre; M Torrent; F Torres; E Viglizzo, J.; Caputo, M.G.; Celis, A. 2005. Análisis sistémico de la agriculturización en la pampa húmeda argentina y sus consecuencias en regiones extrapampeanas: sostenibilidad, brechas de conocimiento e integración de políticas. CEPAL, Santiago de Chile. pp 65.
- Manuel-Navarrete, D.; Gallopín, G.C.; Blanco, M.; Díaz-Zorita, M.; Ferraro, D.O.; Herzer, H.; Laterra, P.; Murmis, M.R.; Podestá, G.P.; Rabinovich, J.; Satorre, E.; Torres, F.; Viglizzo, E.F. 2009. *Multi-Causal and Integrated Assessment of Sustainability: The*

- Case of Agriculturization in the Argentine Pampas. *Environment, Development and Sustainability*; 3: 621–38.
- Mañas, F.; Peralta, L.; Raviolo, J.; García Ovando, H.; Weyers, A.; Ugnia, L.; Gonzalez Cid, M.; Larripa, I.; Gorla, N. 2009a. Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environmental Toxicology and Pharmacology*; 28: 37–41.
- Mañas, F.; Peralta, L.; Raviolo, J.; García Ovando, H.; Weyers, A.; Ugnia, L.; Gonzalez Cid, M.; Larripa, I.; Gorla, N. 2009b. Genotoxicity of AMPA, the environmental metabolite of glyphosate, assessed by the Comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 72: 834–837.
- Mañas, F.; Peralta, L.; Ugnia, L.; Weyers, A.; García Ovando, H.; Gorla, N. 2013. Oxidative stress and comet assay in tissues of mice administered glyphosate and ampa in drinking water for 14 days. *BAG. Journal of basic and applied genetics*; 2: 67-75.
- Marrs, R. H. 1985. The effects of potential bracken and scrub control herbicides on lowland Calluna and grass heath communities in East Anglia, U.K. *Biology Conservation*; 32: 13-32.
- Marrs, R.H.; Frost, A.J.; Plant, R.A. 1991a. Effects of herbicide spray drift on selected species of nature conservation interest: the effects of plant age and surrounding vegetation structure. *Environmental Pollution*; 69: 223–235.
- Marrs, R.H.; Frost, A.J.; Plant, R.A. 1991b. Effect of mecoprop drift on some plant species of conservation interest when grown in standardized mixtures in microcosms. *Environmental Pollution*; 73: 25–42.
- Marrs, R.H.; Frost, A.J.; Plant, R.A.; Lunnis, P. 1993. Determination of buffer zones to protect seedlings of nontarget plants from the effects of glyphosate spray drift. *Agriculture, Ecosystems and Environment*; 45: 283–293.
- Marrs, R.H.; Frost, A.J. 1997. A microcosm approach to the detection of the effects of herbicide spray drift in plant communities. *Journal of Environmental Management*; 50: 369-388.
- Marrs, R.H.; Williams, C.T.; Frost, A.J.; Plant, R.A. 1989. Assessment of the effects of herbicide spray drift on a range of plant species of conservation interest. *Environmental Pollution*; 59:71-86.
- Marshall, E. J. P. 1988. Some effects of annual applications of three growthretarding compounds on the composition of a pasture sward. *Journal applied Ecology*; 25: 619-30.

- Marshall, E. J. P.; Birnie, J. E. 1985. Herbicide effects on field margin flora. Proc.1985 British Crop Protection Conference; 1021-8.
- Marshall, E.J.P. 2001. Biodiversity, herbicides and non-target plants. En: BCPC Conference Weeds 2001, BCPC, Farnham, UK; 855-862.
- Marshall, E. J. P.; Breeze, V. G. 1999. Assessing pesticide risks to nontarget terrestrial plants. Pesticides Safety Directorate, commission no. PN0923. London: Defra.
- Martin, M. L. 2011. Impacto del uso de plaguicidas asociados al cultivo de soja transgénica sobre especies no blanco de la flora riparia y acuática. Tesis de Postgrado. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP. Buenos Aires, Argentina.
- Martínez-Ghersa, M.A. 2011. Impacto ecológico del uso de pesticidas. Ciencia Hoy; 31: 30-35.
- Matthews, G. A. 1979. Pesticide Application Methods. Longmans, London.
- Matthies, D.; Bräuer, I.; Maibom, W.; Tschardtke, T. 2004. Population size and the risk of local extinction: empirical evidence from rare plants. Oikos; 3: 481-488.
- Matson, P; Parton, W.; Power, A.; Swift, M. 1997. Agricultural intensification and ecosystems properties. Science; 277:504–209.
- McGarigal, K.; Cushman, S. A. 2002. Comparative evaluation of experimental approaches to the study of habitat fragmentation effects. Ecological Applications; 12: 335-345.
- Mensah, P.K.; Muller, W.J.; Palmer, C.G. 2012. Using growth measures in the fresh water shrimp *Caridinanilotica* as biomarkers of Roundup(R) pollution of South African fresh water systems. Physics and Chemistry of the Earth; 52: 262–268.
- Meriles, J.M.; Vargas Gil, S.; Haro, R.J.; March, G.J.; Guzmán, C.A. 2008. Selected soil-borne fungi under glyphosate application and crop residues from a long-term field experiment. Biological agriculture & horticulture; 26: 193 – 205.
- Mesnager, R.; Defarge, N.; Spiroux de Vendômois, J.; Séralini, G. E. 2015. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. Food and Chemical Toxicology; 84: 133–153.
- Metzler, M. J.; Puricelli, E.; Peltzer, H. F. 2011. Control de *Conyza* spp.(rama negra) en barbecho de soja con glifosato en mezcla con herbicidas residuales y de contacto. In Acta del Quinto Congreso de la Soja del Mercosur. Primer Foro de la Soja Asia-Marcosur; 138-140.
- Meusel, M.E.; Jäger, E.; Mörchén, G. 1977. The study of growth-forms of higher plants in relation to application of biocide. Vegetation Science and Environmental Protection; 6: 71–76.

- Monquero, P. 2003. Dinámica poblacional e mecanismos de tolerancia de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. Tesis Doctoral. ESALQ – USP. Piracicaba, Brasil.
- Monquero, P.; Christoffoleti, P.J.; Matas, J.A.; Heredia, A. 2004. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. Planta Daninha; 2: 203–210.
- Monroy, C.M.; Cortés, A.C.; Sicard, D.M.; Groot de Restrepo, H. 2005. Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas in vitro a glifosato. Biomédica; 25: 335-345.
- Morales, L. C.; Galetto, L. 2003. Influence of compatibility system and life form on plant reproductive success. Plant Biology; 5: 18-32.
- Morello, J.H.; Pengue, W.A.; Rodríguez, A.F. 2005. Etapas de uso de los recursos y desmantelamiento de la biota del Chaco. Fronteras; 4: 1-17.
- Morello, J.; Pengue, W.; Rodriguez, A. 2006. Un siglo de cambios de diseño del paisaje: el Chaco Argentino. En: S.D. Matteucci (ed.) Panorama de la Ecología de Paisajes en Argentina y Países Sudamericanos. INTA-UNESCO, Bs. As.
- Morello, J. H.; Rodriguez, A.F. 2009. El Chaco sin Bosques: la pampa o el desierto del futuro. Orientación Gráfica. Ed. 402 pp.
- Moreno, C. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Oficina Regional de Ciencia y Tecnología para América Latina y el Caribe de UNESCO y Sociedad Entomológica Aragonesa. Serie Manuales y Tesis SEA; 1: 84.
- Múgica De La Guerra, M.; De Lucio Fernández, L.V.; Martínez Alandí, C.; Sastre Olmos, P.; Atauri-Mezquida, J.A. 2002. Integración territorial de espacios naturales protegidos y conectividad ecológica en paisajes mediterráneos. Dirección General de la RENP y Servicios Ambientales Consejería de Medio Ambiente Junta de Andalucía. Pp. 124.
- Murcia, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. Trends in Ecology and Evolution; 10: 58-62.
- Myers, J.A.; Chase, J.M.; Jiménez, I.; Jørgensen, P.M.; Araujo-Murakami, A.; Paniagua-Zambrana, N. 2013. Beta-diversity in temperate and tropical forests reflects dissimilar mechanisms of community assembly. Ecology Letters; 16: 151–157.
- Nentwig, W. 2000. Die Bedeutung von streifenförmigen Strukturen in der Kultur-landschaft. In: Nentwig, W. (Ed.), Streifenförmige ökologische Ausgleichsflächen in der

- Kulturlandschaft: Ackerkrautstreifen, Buntbrache, Feldränder. Verlag Agrarökologie, Bern, Hannover; 11–40.
- Neumann, G.; Kohls, S.; Landsberg, E.; Stock-Oliveira Souza, K.; Yamada, T.; Romheld, V. 2006. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *Journal of plant diseases and protection*; 969: 963- 969.
- Neve, P. 2007. Challenges for herbicide resistance evolution and management: 50 years after Harper. *Weed Research*; 47: 365-369.
- Neve, P. 2007. Challenges for herbicide resistance evolution and management: 50 years after Harper. *Weed Research*; 47: 365-369.
- Neve, P.; Powles, S.B. 2005. High survival frequencies at low herbicide use rates in populations of *Lolium rigidum* result in rapid evolution of herbicide resistance. *Heredity*; 95: 485-492.
- Neve, P.; Busi, R.; Renton, M.; Vila-Aiub, M. M. 2014. Expanding the eco-evolutionary context of herbicide resistance research. *Pest Management Science*; 70: 1385-1393.
- Niemann, L.; Sieke, C.; Pfeil, R.; Solecki, R. 2015. A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*; 10: 3–12.
- Nisensohn, L.; Tuesca, D.; Angelotti, P.; Bonifazi, S. 2007. *Portulaca gilliesi* (Hook) y *Gomphrena perennis* (L). Especies con tolerancia al herbicida glifosato. *Agromensajes de la Facultad – UNR (AR)*; 21: 1669-8584
- Nordby, A.; Skuterud, R. 1975. The effects of boom height, working pressure and wind speed on spray drift. *Weed Research*; 14: 385–395.
- Norse, D; James, C.; Skinner, B.; Zhao, Q. 1992. Agriculture, land use and degradation. En: J Doodge; G Goodman; J la Rivière; J Marton–Lefèvre; TO’Riordan & I Pradiere (Eds.). *An agenda of science for environment and development into the 21st century*. Cambridge University Press, London, United Kingdom.
- Norsworthy, J.K.; Burgos, N.R.; Oliver, L.R. 2001. Differences in Weed Tolerance to Glyphosate Involve Different Mechanisms. *Weed Technology*; 4: 725–731.
- Nuytens, D.; De Schamphelre, M.; Steurbaut, W.; Baetens, K.; Verboven, P.; Nicolaï, B.; Ramon, H.; Sonck, B. 2006a. Experimental study of factors influencing the risk of drift from field sprayers, Part 1: meteorological conditions. *Aspects of Applied Biology*; 77: 1-8.
- Nuytens, D.; De Schamphelre, M.; Steurbaut, W.; Baetens, K.; Verboven, P.; Nicolaï, B.; Ramon, H.; Sonck, B. 2006b. Experimental study of factors influencing the risk of

- drift from field sprayers, Part 2: spray application technique. *Aspects of Applied Biology*; 77: 331-339.
- Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas. 2003. EPPO Standards: Environmental risk assessment scheme for plant protection products. Chapter 14. OEPP/EPPO; Bulletin 33: 239-244.
- Owen, M. 2008. Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*; 4: 377-387.
- Owen, M.; Powles, S.B. 2010. Glyphosate-resistant rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) populations in the Western Australian grain belt. *Weed Technology*; 24: 44-49.
- Padgett, S.R.; Kolacz, K. H.; Delannay, X.; Re, D. B.; LaVallee, B. J.; Tinius, C. N.; Rhodes, W. K.; Otero, Y. I.; Barry, G. F.; Eichholtz, D. A.; Peschke, V. M.; Nida, D. L.; Taylor, N. B.; Kishore, G. M. 1995. Development, identification and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science*; 35: 1451-1461.
- Papa, J.C. 1997. Resistencia de las malezas a los herbicidas. Jornada de intercambio técnico de soja. AAPRESID, Argentina.
- Papa, J.C.; Puricelli, E. 2003. Control de *Parietaria debilis* con distintas dosis de herbicidas postemergentes. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. UNR*; 4: 61-68.
- Papa, J.C.; Randazo, P. 2007. Flor de Santa Lucía (*Commelina erecta*) en barbecho. Algunas alternativas para su control. *EEA Oliveros del INTA*; 36: 79-81.
- Parr, T. W.; Way, J. M. 1984. The effects of management on the occurrence of agricultural weeds in roadside verges. *Aspects of Applied Biology*; 5: 9-18.
- Paruelo, J.; Guerschman, J.P.; Verón, S.R. 2005. Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo. *Ciencia Hoy*; 87: 14-23.
- Pasquill, F.; Smith, F. B. 1983. *Atmospheric Diffusion* (3rd edn), Horwood, UK.
- Patzold, S.; Klein, C.; Brummer, G.W. 2007. Run-off transport of herbicides during natural and simulated rainfall and its reduction by vegetated filter strips. *Soil Use Manage*; 23: 294-305.
- Pedersen, B.P.; Neve, P.; Andreasen, C.; Powles, S.B. 2007. Ecological fitness of a glyphosate resistant *Lolium rigidum* biotype: Growth, competitiveness and seed production along a competition gradient. *Basic and Applied Ecology*; 8: 258-268.
- Peixoto, F. 2005. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere*; 61: 1115-1122.
- Pengue, W.A. 2003. El glifosato y la dominación del ambiente. *Revista Biodiversidad*; 37: 1-7.

- Pengue, W. A. 2004. Environmental and socioeconomic impacts of transgenic crops in Argentina and South America. An ecological economics approach, en: Breckling, B. y R. Verhoeven (eds.), Risk Hazard Damage. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn.
- Pengue, W. A. 2009. Fundamentos de Economía Ecológica. Editorial Kaicron, Buenos Aires, Argentina
- Pengue, W. A. 2010. Suelo virtual y comercio internacional. Realidad Economica; 250: 52-74
- Pengue, W. A. 2014. Cambios y escenarios en la agricultura argentina del Siglo XXI. GEPAMA. Panel de los Recursos UNEP, Programa de " Desigualdad y Democracia ". Buenos Aires, Argentina.
- Pereyra, M.; Pol, R.G.; Galetto, L. 2015. Does edge effect and patch size affect the interaction between ants and *Croton lachnostachyus* in fragmented landscapes of Chaco forest? Arthropod-Plant Interactions; 9: 175–186.
- Pérez, G. L.; Torremorell, A.; Mugni, H.; Rodriguez, P.; Vera, M. S.; Nascimento, M. D.; Izaguirre, I. 2007. Effects of the herbicide Roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. Ecological Applications; 8: 2310-2322.
- Perfecto, I.; Vandermeer J. 2010. The agroecological matrix as alternative to the land-sparing/agricultura intensification model. Proceedings of the National Academy of Sciences; 107: 5786–5791.
- Perkins Peggy, J.; Boermans Herman, J.; Stephenson Gerald, R. 2000. Toxicity of Glyphosate and Triclorpyr using the frog embryo teratogenesis assay *Xenopus*. Environmental Toxicology and Chemistry; 4: 940-945.
- Phalan, B.; Onial, M.; Balmford, A.; Green, R.E. 2011. Reconciling food production and biodiversity conservation: land sharing and land sparing compared. Science; 333:1289–1291.
- Pielou, E. C. 1975. Ecology diversity. J. Wiley and Sons, New York.
- Pimentel, D. 1995. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. Journal of Agricultural and Environmental Ethics; 8:17–29
- Pitcairn, C.E.R.; Leith, I.D.; Sheppard, L.J.; Sutton, M.A.; Fowler, D.; Munro, R.C.; Tang, S.; Wilson, D. 1998. The relationship between nitrogen deposition, species composition and foliar nitrogen concentrations in woodland flora in the vicinity of livestock farms. Environmental Pollution; 102: 41–48.

- Pitcairn, C.E.R.; Fowler, D.; Leith, I.D.; Sheppard, L.J.; Sutton, M.A.; Kennedy, V.; Okello, E. 2003. Bioindicators of enhanced nitrogen deposition. *Environmental Pollution*; 126: 353–361.
- Piquer-Rodríguez, M.; Torella, S.; Gavier-Pizarro, G.; Volante, J.; Somma, D.; Ginzburg, R.; Kuemmerle, T. 2015. Effects of past and future land conversions on forest connectivity in the Argentine Chaco. *Landscape Ecology*; 5: 817-833.
- Poggio, S. L.; Chaneton, E. J.; Ghersa, C. M. 2013. The arable plant diversity of intensively managed farmland: effects of field position and crop type at local and landscape scales. *Agriculture, Ecosystems and Environment*; 166: 55-64.
- Powles, S.B., 2008. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science*; 64: 360–365.
- Puricelli, E.; Faccini, D.; Metzler, M.; Torres, P. 2015. Differential Susceptibility of *Conyza bonariensis* Biotypes to Glyphosate and ALS-Inhibiting Herbicides in Argentina. *Agricultural Sciences*; 6:22-30.
- Puricelli, E.; Tuesca, D. 2005. Riqueza y diversidad de malezas en trigo y barbechos de secuencias de cultivos resistentes a glifosato. *Agriscientia*; 22: 69-78.
- Pywell, R.F.; Nowakowski, M.; Allchin, E.A.; Aldous, E. 1996. Preliminary studies of the effects of selective herbicides on wild flower species. *Aspects of Applied Biology*; 44: 149–156.
- Quantick, H. R. 1985. *Aviation in Crop Protection, Pollution and Insect Control*. Collins, London.
- R Core Team 2015. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rainero, H. 2004. Avances en el control de malezas con tolerancia al glifosato. INTA- EEA Manfredi; Ediciones INTA 12: 5–12.
- Ramankutty, N; Graumlich, L.; Achard, F.; Alves, D.; Chhabra, A.; Defries, R.S.; Foley, J.A.; Houghton, R.A.; Klein Goldewijk, K.; Lambin, E.F.; Millington, A.; Rasmussen, K.; Reid, R.S.; Turner, B.L. 2006. Global land-cover change: Recent progress, remaining challenges. En: EF Lambin&HJ Geist (Eds.). *Land-use and land-cover change. Local Processes and Global Impacts*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp 222.
- Reichenberger, S.; Bach, M.; Skitschak, A.; Frede, H.G. 2007. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness: a review. *Science Total Environmental*; 384: 1–35

- Relyea, R.A. 2005 . The lethal impact of roundup on aquatic and terrestrial amphibians". *Ecological Applications*; 4 :1118-1124.
- Rew, L.J.; Theaker, A.J.; Froud-Williams, R.J.; Boatman, N.D. 1992. Nitrogen fertilizer misplacement and field boundaries. *Aspects of Applied Biology*; 30: 203-206.
- Richards, J.F. 1990. Land transformation. En: BL Turner; WC Clark; RW Kates; JF Richards; JT Mathews& WB Meyer (Eds.). *The Earth as Transformed by Human Action*, Cambridge University Press, London; 163-178.
- Ricklefs, R. E. 1987. Community diversity: relative roles of local and regional processes. *Science(Washington)*; 4785: 167-171.
- Riemens, M.M.; Dueck, T.; Kempenaar, C. 2008. Predicting sublethal effects of herbicides on terrestrial non-crop plant species in the field from greenhouse data. *Environmental Pollution*; 155: 141-149.
- Riemens, M. M.; Dueck, T.; Kempenaar, C.; Lotz, L. A.; Kropff, M. J. 2009. Sublethal effects of herbicides on the biomass and seed production of terrestrial non-crop plant species, influenced by environment, development stage and assessment date. *Environmental pollution*; 8: 2306-2313.
- Ritz, C.; Cedergreen, N.; Jensen, J.E.; Streibig, J.C. 2006. Relative potency in nonsimilar dose–response curves. *Weed Science*; 3: 407–412.
- Roberts, H.A.; Neilson, J.E. 1981. Changes in the soil seed bank of four long-termcrop/herbicide experiments. *Journal of Applied Ecology*; 18: 661–668.
- Roberts, H. A. 1982. *Weed Control Handbook*. 7th edn. Oxford: Blackwells.
- Rodriguez, N. E. 2004. ¿Malezas nuevas? o viejas que se adaptan a los nuevos sistemas: Malezas con grados de tolerancia a glifosato (No. Caja 6). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires (Argentina) Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, Córdoba, Argentina.
- Rofman, A.; García, A.; García, L.; Lampreable, F; Rodríguez, E.; Vázquez Blanco, J.M. 2008. Subordinación productiva en las economías regionales de la posconvertibilidad. Crecimiento económico y exclusión social en los circuitos del tabaco, la vid, el azúcar, el algodón y el olivo". En: *Revista Realidad Económica*, nro 240, Buenos Aires, Argentina.
- Roß-Nickoll, M.; Lennartz, G.; Fürste, A.; Mause, R.; Ottermanns, R.; Schäfer, S.; Smolis, M.B.T.; Toschki, E.A.; Ratte, H.T. 2004. Die Arthropodenfauna von Nichtzielflächen und die Konsequenzen für die Bewertung der Auswirkungen von

Pflanzenschutzmitteln auf den terrestrischen Bereich des Naturhaushaltes. Umweltbundesamt, Berlin.

- Roy, D. B.; Bohan, D. A.; Haughton, A. J.; Hill, M. O.; Osborne, J. L.; Clark, S. J.; Champion, G. T. 2003. Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subject to contrasting herbicide regimes in the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*; 1439: 1879-1898.
- Ruiter, H.; Uffing, A.J.M.; Van Dijk, N.M. 2000. The influence of growth stage of weeds on the glyphosate dose needed. *Mededelingen van de Faculteit voor Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent*; 2: 69-76.
- Sabbatini, M.R.; Irigoyen J.H.; Vernavá, M.N. 2004. Estrategias Para el Manejo Integrado de Malezas: Problemática, Resistencia a Herbicidas y Aportes de la Biotecnología. En: *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina; 11: 343 – 354.
- Sala, O.E.; Chapin III, F.S.; Armesto, J.J.; Berlow, E.; Bloomfield, J.; Dirzo, R.; Huber-Sanwald, E.; Huenneke, L.F.; Jackson, R.B.; Kinzig, A.; Leemans, R.; Lodge, D.M.; Mooney, H.A.; Oesterheld, M.; LeRoy Poff, N.; Sykes, M.T.; Walker, B.H.; Walker, M.; Wall, D.H. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*; 287:1770-1774.
- Sammons, R.D.; Gaines, T.A. 2014. Glyphosate resistance: state of knowledge. *Pest Management Science*; 70: 1367-1377.
- Samsel, A.; Seneff, S. 2015. Glyphosate, pathways to modern diseases III: manganese, neurological diseases, and associated pathologies. *Surgical Neurology International*; 6:45.
- Santos, T.; Tellería, J. L. 2006. Pérdida y fragmentación de hábitat: efecto sobre la conservación de las especies. *Ecosistemas*; 2: 3-12.
- Sanvido, O.; Romeis, J.; Bigler, F. 2007. Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. En: *Green Gene Technology*. Springer Berlin Heidelberg; 235-278.
- Satorre, E. H. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia hoy*; 15: 24-31.
- Saunders, D. A.; Hobbs, R. J.; Margules, C. R. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology*; 5: 18-32.

- Schmitz, J.; Schäfer, K.; Brühl, C.A. 2013. Agrochemicals in field margins –Field evaluation of plant reproduction effects. *Agriculture, Ecosystems & Environment*; 189: 82–91.
- Schmitz, J.; Hahn, M.; Brühl, C.A. 2014. Agrochemicals in field margins – An experimental field study to assess the impacts of pesticides and fertilizers on a natural plant community. *Agriculture, Ecosystems and Environment*; 193: 60–69.
- Scursoni, J. A.; Satorre, E. H. 2010. Glyphosate management strategies, weed diversity and soybean yield in Argentina. *Crop Protection*; 29: 957-962
- Seefeldt, S.S.; Jensen, S.E.; Fuerst, E.P. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationship. *Weed Technology*; 9: 218-227.
- Sekercioglu, C. H.; Loarie, S. R.; Oviedo Brenes, F.; Ehrlich, P. R.; Daily, G. C. 2007. Persistence of forest birds in the Costa Rican agricultural countryside. *Conservation Biology*; 2: 482-494.
- Sevilla Guzmán, E. 2006. De la sociología rural a la agroecología. Icaria Editorial-Junta de Andalucía, Barcelona, España.
- Shao, N.L.; Kole, R.K. 2004. Response of gill ATPase and liver esterase of *Pseudorasbora parva* to a two month exposure to glyphosate and metsulfuron methyl. *Toxicological and Environmental Chemistry*; 86: 237-243.
- Shrestha, A.; Hembree, K.J.; Va, N. 2007. Growth stage influences level of resistance in glyphosate-resistant horseweed. *California Agriculture*; 61: 67-70.
- Silvetti, F., 2012. Trayectoria histórica de la territorialidad ganadera campesina en el oeste de la Provincia de Córdoba (Argentina). *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*; 3: 333–67.
- Simpson, G.G. 1964. Species density of North American recent mammals. *Systematic Zoology*; 57-73.
- Smith, G.R. 2001. Effects of Acute Exposure to a Commercial Formulation of Glyphosate on the Tadpoles of Two Species of Anurans. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 67:483-8.
- Soria, N. 2016. Invasión de plantas no nativas en el Bosque Chaqueño de Córdoba: Influencias de la fragmentación y el uso ganadero. Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Soso, A.B.; Barcellos, L.J.G.; Ranzani-Paiva, M.J.; Kreutz, L.C.; Quevedo, R.M.; Anziliero, D.; Lima, M.; Silva, L.B.; Ritter, F.; Bedin, A.C.; Finco, J.A. 2007. Chronic exposure to sub-lethal concentration of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and

- affects reproduction of female Jundí (*Rhamdia quelen*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*; 23: 308-313.
- Stewart, B.; Robinson, C. 1997. Are agroecosystems sustainable in semiarid regions? *Advances in Agronomy*; 60:191-228.
- Streibig, J.C. 1988. Herbicide bioassay. *Weed Research*; 6: 479-484.
- Sullivan, T.P.; Lautenschlager, R.A.; Wagner, R.G. 1996. Influence of glyphosate on vegetation dynamics in different successional stages of sub-boreal spruce forest. *Weed Technology*; 439-446.
- Sullivan, T. P.; Sullivan, D. S. 2003. Vegetation management and ecosystem disturbance: impact of glyphosate herbicide on plant and animal diversity in terrestrial systems. *Environmental Review*; 11: 37-59.
- Szarek, J.; Siwicki, A.K.; Andrzejewska, A.; Przedziecka, D.; Terech-Majewska, E.; Banaszkiewicz, T.; Kolman, H. 2000. Effect of atrazine (Azoprim 50 WP) and trimethylsulfonium glyphosate (Avans 330 SI) on morphological changes in hepatopancreas of sturgeon (*Acipenser baeri*). *Acta Poloniae Toxicologica*; 8: 121-128.
- Tálamo, A.; De Casenave, J.L.; Caziani, S.M. 2012. Components of woody plant diversity in semi-arid Chaco forests with heterogeneous land use and disturbance histories. *Journal of Arid Environments*; 85:79-85.
- Tallmon, D. A.; Jules, E. S.; Radke, N. J.; Mills, L. S. 2003. Of mice and men and trillium: cascading effects of forest fragmentation. *Ecological Applications*; 5: 1193-1203.
- Tapella E., 2012. El conflicto social en torno a la apropiación de servicios ecosistémicos en el oeste de la Provincia de Córdoba: la posición de los actores sociales más vulnerables. PhD thesis, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.
- Tesfamariam, T.; Bott, S.; Cakmak, I.; Romheld, V.; Neumann, G. 2009. Glyphosate in the rhizosphere- Role of waiting times and different glyphosate binding forms in soils for phytotoxicity to non-target plants. *European Journal of Agronomy*; 31: 126-132.
- Theoharides, K. A.; Dukes, J. S. 2007. Plant invasion across space and time: factors affecting nonindigenous species success during four stages of invasion. *New Phytologist*; 176: 256-273.
- Tiscornia, G.; Achkar, M.; Brazeiro, A. 2014. Efectos de la intensificación agrícola sobre la estructura y diversidad del paisaje en la región sojera de Uruguay. *Ecología austral*; 2: 212-219.

- Tobar López, D. I.; Casasola, F. 2007. Diversidad de mariposas en un paisaje agropecuario del Pacífico Central de Costa Rica. *Butterfly diversity in an agricultural landscape in the Central Pacific region of Costa Rica. Agroforestería en las Américas (CATIE)*; 45: 58-65.
- Torrella, S. A.; Adámoli, J. 2006. Situación ambiental de la ecorregión del Chaco Seco. En: Brown A.; Martínez Ortiz U.; Acerbi M.; Corcuera J. (Eds.). *La Situación Ambiental Argentina 2005*. Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires.
- Tscharntke, T.; Klein, A.M.; Kruess, A.; Steffan-Dewenter, I.; Thies, C. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters*; 8: 857–874.
- Tuduri, L.; Harner, T.; Blanchard, P.; Li, Y.F.; Poissant, L.; Waite, D.T.; Murphy, C.; Belzer, W. 2006. A review of currently used pesticides (CUPS) in Canadian air and precipitation. Part 2: Regional information and perspectives. *Atmospheric Environment*; 40: 1579–1589.
- Tuesca, D.; Nisensohn, L. 2004. Inhibidores de las síntesis de aminoácidos. En: *Herbicidas: Características y fundamentos de su actividad*. Vitta, J. UNR Editora, Rosario.
- Tuesca, D.; Nisensohn, L.; Papa, J.C. 2007. Para estar alerta: el Sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) resistente a glifosato. *Revista SOJA- Para mejorar la producción*; 36: 72-75.
- Tuesca, D.; Nisensohn, L.; Sabbatini, M.R.; Chantre; G. 2010. Resistencia de malezas a herbicidas: evolución y estrategias de manejo. En: *Biotecnología y Mejoramiento vegetal II*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina; 6: 619 – 626.
- Türe, C.; Böcük, H. 2008. Investigation of threatened arable weeds and their conservation status in Turkey. *Weed research*; 3: 289-296.
- Valverde, B.E.; Richey, C.R.; Caseley, J. C. 2000. Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas en arroz: experiencias en América Central con *Echinochloa colona*. Natural Resources Institute, Kent (RU) CATIE, Turrialba (Costa Rica) *Cámara Insumos Agropecuarios*; 135: 115-128.
- Valenzuela De Mari, C. 1999. Dinámica Geográfica de la Actividad Agropecuaria del Nordeste Subtropical Argentino en la Segunda Mitad del Siglo XX. Facultad de Humanidades - Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.
- Vandermeer, J.; Perfecto, I. 2007. The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation biology*; 1: 274-277.

- Venier, P.; Funes, G.; García, C. C. 2012. Physical dormancy and histological features of seeds of five *Acacia* species (Fabaceae) from xerophytic forests in central Argentina. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*; 1:39-46.
- Vidal, R.A.; Rainero, H.P.; Kalsing, A.; Trezzi, M.M. 2010. Exploration of herbicide associations to prevent glyphosate tolerant and resistant weeds. *Planta daninha*; 1: 159-165.
- Viglizzo, E.F.; Roberto, Z.; Lértora, F.; López Gay, E.; Bernardos, J. 1997. Climate and land-use change in field-crop ecosystems of Argentina. *Agriculture Ecosystem Environment*; 66: 61-70.
- Viglizzo, E.F.; Pordomingo, A.J.; Castro, M.G.; Lértora, F. 2003. Environmental assessment of agriculture at a regional scale in the pampas of Argentina. *Monitoring and Assessment*; 87: 169-195.
- Viglizzo, E.F.; Pordomingo, A.J.; Castro, M.G.; Lértora, F.; Bernardos, J. 2004. Scale-dependent controls on ecological functions in agroecosystems of Argentina. *Agriculture Ecosystem Environment*; 101: 39-51.
- Viglizzo, E.F.; Frank, F.C.; Carreño, L.; Jobbágy, E.; Pereyra, H.; Clatt, J.; Pincén, D.; Ricard, F. 2011. Ecological and environmental footprint of 50 years of agricultural expansion in Argentina. *Global Change Biology*; 17: 959–973.
- Vigna, M. R.; López, R. L.; Gigón, R.; Mendoza, J. 2008. Estudios de curvas dosis-respuesta de poblaciones de *Lolium multiflorum* a glifosato en el SO de Buenos Aires, Argentina. En: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas (26.); Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (18., 2008, Ouro Preto, MG, BR). Atas. Ouro Preto, SBCPD.
- Vila-Aiub, M. M.; Vidal, R. A.; Balbi, M. C.; Gundel, P. E.; Trucco, F.; Ghersa, C. M. 2008. Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: an overview. *Pest management science*; 4: 366-371.
- Vílchez, S.; Harvey, C.; Sánchez, D.; Medina, D.; Hernández, B. 2004. Diversidad de aves en un paisaje fragmentado. *Encuentro*; 68: 60-75
- Viougeas, M.A.; Rohr, R.; Chamel, A. 1995. Structure changes and permeability of ivy (*Hedera helix* L.) leaf cuticles in relation to leaf development and after selective chemical treatments. *New Phytologist*; 130: 337–348.
- Vitta, J.I.; Faccini, D.E.; Nisensohn, L.A. 2000. Control of *Amaranthus quitensis* in soybean crops in Argentina: an alternative to reduce herbicide use. *Crop Protection*; 7: 511–513.

- Vitta, J. I.; Tuesca, D.; Puricelli, E. 2004. Widespread use of glyphosate tolerant soybean and weed community richness in Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment*; 103: 621-624.
- Waldner, L.S. 2008. The kudzu connection: Exploring the link between land use and invasive species. *Land Use Policy*; 25:399-409.
- Wang, C-Y. 2001. Effect of Glyphosate on Aromatic Amino Acid Metabolism in Purple Nutsedge (*Cyperus rotundus*). *Weed Technology*; 15: 628--635.
- Wauchope, R.D.; Estes, T.L.; Allen, R.; Baker, J.L.; Hornsby, A.G.; Jones, R.L.; Richards, R.P.; Gustafson, D.I. 2002. Predicted impact of transgenic, herbicidetolerant corn on drinking water quality in vulnerable watersheds of the mid-western USA. *Pest Management Science*; 58: 146–160.
- Wiegand, T.; Moloney, K. A.; Naves, J.; Knauer, F. 1999. Finding the missing link between landscape structure and population dynamics: a spatially explicit perspective. *The american naturalist*; 6: 605-627.
- Wiens, J.A. 1989. Spatial scaling in ecology. *Functional Ecology*; 3: 385–397.
- Williams, C. T.; Davis, B. N. K.; Marrs, R. H.; Osborn, D. 1987. Impact of Pesticide Drift. (NERC contract report to NCC). Institute of Terrestrial Ecology, Huntingdon.
- Williams-Linera, G. 2002. Tree species richness complementarity, disturbance and fragmentation in a Mexican tropical montane cloud forest. *Biodiversity and Conservation*; 11: 1825-1843.
- Willis, A. J. 1988. The effects of growth retardants and selective herbicides on roadside verges at Bibury, Gloucestershire, over a thirty-year period. *Ann. Applied Biology*; 16: 19-26.
- Yates, W. E.; Akesson, N. B.; Bayer, D. E. 1978. Drift of glyphosate sprays applied with aerial and ground equipment. *Weed Science*; 26: 597-604.
- Yates, C.J.; Norton D.A.; Hobbs, R.J. 2000. Grazing effects on plant cover, soil and microclimate in fragmented woodlands in south-western Australia: implications for restoration. *Austral Ecology*; 25:36-47.
- Yemm, E. W.; Willis, A. J. 1962. The effects of maleic hydrazide and 2,4- dicholophenoxy acetic acid on roadside vegetation. *Weed Reserch*; 2: 24-40.
- Zablotowicz, R.M.; Reddy, K.N. 2004. Impact of Glyphosate on the Bradyrhizobium japonicum Simbiosis with Glyphosate-Resistant Transgenic Soybean: A Mini review. *Journal of Environmental Quality*; 33:825–831.

- Zak, M.; Cabido, M.; Hodgson, J. 2004. Do subtropical seasonal forests in the Gran Chaco, Argentina, have a future? *Biological Conservation*; 120: 589-598.
- Zak, M.; Cabido, M. 2005. Deforestación y avance de la frontera agropecuaria en el Norte de Córdoba. *Ciencia Hoy*; 15: 20.
- Zak, M.; Cabido, M.; Cáceres, D.; Díaz, S. 2008. What drives accelerated land cover change in central Argentina? Synergic consequences of climatic, socio-economic and technological factors. *Environmental Management*; 42:181-189.
- Zheng, D.; Chen, J. 2000. Edge effects in fragmented landscapes: a generic model for delineating area of edge influences (D-AEI). *Ecological Modelling*; 132:175–190.
- Zobiole, L.H.S.; Kremer, R.J.; De Oliveira Jr., R.S.; Constantin, J. 2012. Glyphosate effects on photosynthesis, nutrient accumulation, and nodulation in glyphosate-resistant soybean. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*; 175: 319- 330.
- Zuloaga, F.; Morrone, O. 1999. Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. II. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 74.
- Zuloaga, F.O.; Rúgolo de Agrasar, Z.E.; Anton, A.M. 2012. Flora Argentina. Plantas Vasculares de la República Argentina. Tomos Vol. 3 (I - II); Vol. 8 y Vol. 14. Gráficamente, Córdoba.
- Zwenger, P.; Pestemer, W. 2000. Testing the phytotoxic effects of herbicides on higher terrestrial non-target plants using a plant life cycle test. *Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz Sonderheft*; 17: 711–718.

